

013



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 196 27 568 A 1**

⑤1 Int. Cl. 6:
G 02 B 21/00

②1 Aktenzeichen: 196 27 568.7
②2 Anmeldetag: 9. 7. 96
④3 Offenlegungstag: 15. 1. 98

DE 196 27 568 A 1

⑦1 Anmelder:
Carl Zeiss Jena GmbH, 07745 Jena, DE

⑦2 Erfinder:
Czarnetzki, Norbert, Dipl.-Phys., 07747 Jena, DE

⑤4 Anordnung und Verfahren zur konfokalen Mikroskopie

DE 196 27 568 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anm lder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 11. 97 702 063/191

30/22

Beschreibung des Standes der Technik

Ermittelte Patente

EP 0 320 760 B1 06.12.1988 McCarty (Baker Hughes)
 DE P40 35 799.6 10.11.1990 Großkopf (Zeiss)
 EP 539 471 B1 16.07.1991 AMOS (Medical Research Council)
 DE P 41 38 020.7 19.11.1991 Neumann (Iserlohn)
 EP 0 539 691 A2 28.08.1992 Tanaami (Yokogawa)
 US 5.162.941 10.11.1992 Lawrence (Wayne Universität)
 DE 43 14 574 A1 29.04.1993 Kley
 DE 43 33 620 A1 15.10.1993 Kley (JENOPTIK)
 DE-C1 44 37 896 15.05.96 Leica

Andere Veröffentlichungen

Petrán, Hadravsky, Egger, Gamblos: "Tandem-scanning reflected-light microscop", Jour. Opt. Soc. Amer., 68: 661-664

Kino et al, "Confocal Scanning Optical Microscopy, Physics Today, Sep. 1989 Pawley, "Handbook of Biological Confocal Microscopy", Sec. Edition 1995.

Die vorliegende Erfindung beschäftigt sich mit der Möglichkeit der schnellen dreidimensionalen Abbildung von transparenten Objekten oder höhenstrukturierten Flächen durch die Anwendung einer Vielzahl konfokaler Hilfsblenden (Pinholes) in einem Abbildungsstrahlengang und einem entsprechend effektiven Scannen der Objektebene sowie der Echtzeit-Bildbeobachtung sowohl mit dem bloßen Auge als auch mit Bildaufnahmekameras.

Neben den konfokalen Laserscanningmikroskopen (CLSM), die nur einen sehr aufwendigen und langsamen Aufbau des Bildes gestatten, haben sich vor allem Anordnungen zum Scannen einer zu untersuchenden Objektebene mit Hilfe von Nipkowscheiben etabliert.

Die erste in einem Tandem-Mikroskop benutzte Nipkowscheibe verwendete Petrán 1968. Sie bestand aus einer Kupferfolie, in die Löcher mit 30 bis 80 µm Durchmesser gebohrt waren und in Form mehrerer links- und rechtsdrehender Archimedischer Spiralen angeordnet wurden. Vorteil dieser Anordnung war derzeit ein schneller konfokaler Bildaufbau in Echtzeit für eine kontrastreiche visuelle Beobachtung. Nachteile waren ein aufwendiger, gegen Dejustierung empfindlicher optischer Gesamtaufbau mit einer schlechten Beleuchtungseffektivität. Durch den für konfokale Nipkow-Einzelscheiben typische Bedeckungsgrade mit Lochflächen von wenigen Prozent konnten nur einige Prozent der Leuchtenergie der Lichtquelle zur Beleuchtung des Objektes wirklich genutzt werden. Dies war vor allem für Applikationen im Bereich Fluoreszenz oft nicht genug für eine ausreichende Bildhelligkeit.

Weitere Probleme bei parallelen konfokalen Anordnungen sind ein durch Streuung an der Lochscheibe stark aufgehellter Bild-Hintergrund, der den eigentlichen Bildinhalt leicht überdecken kann.

Zur Verbesserung des störenden Streulichteinflusses einer einzelnen Nipkowscheibe schlug Xiao und Kino et al 1987 eine geneigte Scheibe mit gerichtet reflektierender Scheibenoberfläche vor, deren Beleuchtungs-Rückreflex kontrolliert ausgeblendet wurde durch geringe Neigung der Scheibe gegen die optische Achse. Da-

durch entstehende metrische Verzerrungen der konfokalen Wirkung im Hauptstrahlengang können bei manchen Applikationen akzeptiert werden, bei Anwendung der konfokalen Mikroskope z. B. in der Mikroelektronik bei der Schaltkreiskontrolle jedoch nicht. Eine enorme Verbesserung der Beleuchtungseffektivität konfokaler Anordnungen mit Mehrfachblenden gelang durch Einsatz von Systemen von Paaren von Mikrolinsen mit Blenden, die z. T. in ruhenden Beleuchtungsstrahlengängen zur Erzeugung von Arrays von Beleuchtungsspot (DE 40 35 799 A1) aber vor allem in scannenden Beleuchtungsstrahlengängen (US 5.162.941, JP 286.112/91, EP 0 539 691 A2) von Anordnungen mit Nipkow-Doppelscheiben eingesetzt werden. Die refraktiven Hilfsblenden oder Fresnellinsen sind im allgemeinen konzentrisch vor den Blenden angeordnet und sammeln das Licht der Beleuchtungsquelle, bilden die Punktlichtquelle in die konfokalen Blenden des Beleuchtungsstrahlenganges ab. So wird das reine Vignettieren des Beleuchtungsbündels, wie dies bei Einsatz nur einer Nipkowscheibe passiert, vermieden und die Beleuchtungseffektivität um mehr als eine Größenordnung verbessert.

DE 44 37 896 beschreibt kleine ebene Spiegel als Reflexionsflächen auf einem scheibenförmigen Strahlscanner.

Derartige Einscheibenanordnungen haben eine geringe Beleuchtungseffektivität. Einen Vorschlag für die gleichzeitige Nutzung mehrerer Laser verschiedener Farbemission in einem Laserscanning-Mikroskop ist in EP 539 471 B1 gemacht. Dort werden in einem konventionellen Laserscanning-Mikroskop zwei körperlich gegenüber einem Strahlteiler verschieden geneigte Laser in den Hauptstrahlengang gekoppelt und die Fluoreszenzbilder beim konfokalen Bildaufbau mit zwei geeignet versetzten Empfängern aufgenommen.

Zusammenfassung der erfinderischen Lösungen

Beschrieben werden verschiedene Anordnungen zur zeitgleichen konfokalen Beleuchtung einer Objektebene mit einer Vielzahl von geeignet divergierenden Leuchtpunkten sowie zugehörigen Abbildungsgliedern und einer Vielzahl von Pinholes zur konfokalen, kontrastreichen Abbildung in einem Beobachtungsgerät wie z. B. einem Mikroskop.

In einer Ausführungsform wird das Beleuchtungsraster mit Hilfe einer oder mehrerer wechselbarer Punktlichtquellen oder auch konventionellen Lichtquellen erzielt, welche mit Teilerlementen wie z. B. polarisationsoptische Teiler und Phasenschieber sowie einem sphärischen oder asphärischen Mikrospiegelarray in eine Objektebene abgebildet werden. Die Applikation vorgenannter Mikrospiegelelemente erfolgt in gegenüber bekannten Tandemanordnungen modifizierter Form. In einer weiteren Ausführung, anwendbar sowohl in Nipkow-Doppelscheibenanordnungen als auch in achssymmetrischen Doppelscheibenanordnungen, wird das Beleuchtungsraster durch eine oder mehrere Punktlichtquellen oder auch konventionellen Lichtquellen erzielt, die zeitgleich über eine angepaßte holographische Mikroskopie ebenfalls in die Objektebene abgebildet werden. Im Hauptstrahlengang wird das Beleuchtungsraster durch das Abbildungsobjektiv in eine optisch konjugierte Ebene mit einem geeigneten Pinholeraster abgebildet, dabei konfokal begrenzt sowie über einen wählbaren optischen Teiler und optische Hilfsmittel auf einen Kameradetektor oder zur visuellen Beobachtung in Echtzeit transformiert. Die optische Anordnung zur

konfokalen Beleuchtung und Abbildung ist in der ersten Ausführung für einen großen Wellenlängenbereich farblich korrigiert und für die zweite Ausführungsform für ausgewählte Wellenlängen. Die Wirkung der Bauelemente der Beleuchtung beeinflusst die Qualität der hochkorrigierten Abbildungsobjektive in keinem Fall negativ.

Die vorliegende Erfindung hat für Anordnungen mit multiplen konfokalen Strahlengängen zur Aufgabe, eine hohe Effizienz der Beleuchtung mit einer breitbandigen farblichen Korrektur des Beleuchtungs- und Abbildungsbezweiges zu verbinden sowie Vereinfachungen in der Gesamtanordnung vorzuschlagen. Für Anordnungen mit refraktorischen Einzellinsenarrays gelingt eine Korrektur für die Abbildung von Lichtquellen in Blenden oder die Aufteilung in Beleuchtungsbündel mit konfokalem Charakter bisher nur für eine Wellenlänge. Die Zusammenstellung von achromatischen Mikrolinsensystemen im Beleuchtungsbezweig z. B. durch eine dritte oder vierte Scheibe mit weiteren Mikrolinsen zum Aufbau eines farbkorrigierten Beleuchtungssystems erscheint technologisch und vom Aufwand für die Justierung problematisch.

Eine Lösung für die vorliegende Aufgabe ist der Einsatz von vielen holographischen Mikroelementen im Beleuchtungsbezweig und die optische Abtrennung dieser Elemente aus dem Abbildungsbezweig, um die Korrekturen der Abbildung des Beobachtungsobjektes nicht zu verschlechtern. Durch Wahl eines geeigneten Einfallswinkels für eine monochromatische Punktlichtquelle (Laser) gelingt die vielfache Abbildung der Punktlichtquelle in die Blenden der unteren Lochscheibe (oder die Formierung eines vielfachen, konfokalen Beleuchtungsbüscheles). Für weitere, bevorzugte und monochromatische Beleuchtungs-Wellenlängen gelingt durch Wahl anderer Einfallswinkel relativ zu den holographischen Mikroelementen eine farblich korrekte Abbildung einer zweiten resp. weiterer Punktlichtquellen. Dabei wird das Design der holographischen Abbildung so gewählt, daß der Ort des Bildes der Punktlichtquelle bei den ausgewählten Wellenlängen übereinstimmt. Dazu wird neben dem Einfallswinkel der Beleuchtungsbündel u. a. auch der optische Abstand oder die Apertur der verschiedenen Punktlichtquellen zur Scheibe mit den holographischen Elementen geeignet gewählt. Eine Unterstützung der farblich korrekten Abbildung für verschiedene Punktlichtquellen gelingt zusätzlich durch einen möglichen Einsatz von refraktiven Hilfslinsen, die z. B. an den Wechsel vom dichroitischen Teilerelement gekoppelt sein könnten. Die Realisierung der vielen holographischen Mikroelemente der Scheibe kann nach verschiedenen Verfahren erfolgen. Eine erste Möglichkeit ist die numerische Berechnung von Mikro-Hologrammen, die mit den oben genannten Randbedingungen zu erfolgen hat. Entscheidende Parameter sind die Auswahl der später benutzten Beleuchtungs-Wellenlängen und der günstigsten Einfallswinkel zur Erzielung einer hohen Beugungseffektivität sowie die Berücksichtigung von Effekten aus sekundären Bildern. Um einen hohen Kontrast in der Beleuchtung zu erreichen, sind die erzeugenden Parameter des Hologramms den geometrischen Randbedingungen der Form des Beleuchtungsarrays anzupassen. Dazu sind die sekundären Bilder so zu legen, daß sie nicht im Bereich der Blendenlöcher zu liegen kommen. Eine zweite Möglichkeit zur Erzeugung vieler holographischer Mikroelemente ist das mehrfache Einbelichten eines Amplituden- oder Phasenhologramms in eine Trägerplatte unter Berücksichtigung

der später erwünschten Beleuchtungsrichtungen und -Wellenlängen. Beim Erzeugen von Hologrammen sind als Randbedingung der Belichtung die spektrale Empfindlichkeit der Photolacke und die Wirkung der Hologramme bei den eigentlichen Arbeitswellenlängen in Übereinstimmung zu bringen.

In einer weiteren, vorteilhaften Ausführungsform werden die Abbildungselemente für die Lichtquelle als eine Vielzahl von geformten Spiegeln mit sphärischen oder asphärischen Flächen ausgebildet. Die farbrichtige Abbildung ist den Spiegeln innewohnend wie auch die sphärischen Abbildungsfehler bei nicht zu großen Öffnungen des Beleuchtungsbündels geringer als bei refraktorischen Linsen gleicher Brechkraft sind. Der für Abbildungen mit geformten Spiegeln vorteilhafte senkrechte Einfall des Bündels (axiale Nutzung) wird durch geeignete polarisationsoptische Hilfsmittel oder für Weißlichtquellen auch durch konventionelle Teilerelemente realisiert. Wenn das Licht der Beleuchtungsquelle linear polarisiert ist, was bei Lasern ohne Verlust an Lichtleistung leicht realisierbar ist und vorteilhaft auch über polarisationserhaltende Fasern geführt werden kann ist die Einkopplung der Quelle in den Beleuchtungsstrahlengang besonders effektiv möglich. Bei Nutzung von unpolarisierten Weißlichtquellen für eine Beleuchtung kann ein Polarisator in der Abbildung der Lichtquelle eingebunden sein, um polarisationsoptische Teilerelemente einsetzen zu können. Die resultierende Lichtleistung des Beleuchtungsbezweiges wird dadurch natürlich einschränkt. Ein Polarisations-Strahlungsteiler reflektiert das gesamte Beleuchtungsbündel in Richtung der Flächennormalen der Platte mit den abbildenden Spiegeln. Um einen effektiven Durchgang des Beleuchtungslichtes durch den Polarisations-Strahlungsteiler zu erreichen wird im Beleuchtungsstrahlengang vor den Mikrosiegeln eine geeignete $\lambda/4$ -Platte angeordnet, die die Polarisationssebene bei zweimaligem Lichtdurchtritt um 90° dreht und die nach den abbildenden Spiegeln entstehende Teilbündel ungehindert durch den Polarisations-Strahlungsteiler durchtreten läßt. Damit ist eine nahezu gleich große Beleuchtungseffektivität der Doppelscheibenanordnung mit abbildenden Spiegeln wie mit einer Doppelscheibenanordnungen mit transmittiven Abbildungselementen bei der vielfachen Abbildung der Punktlichtquelle möglich. Die Abbildung der Punktlichtquelle über die geformten Spiegel wird bildseitig so dimensioniert, daß das Bild der Punktlichtquelle die Größe der Blenden nicht überschreitet und der Beleuchtungskegel die bildseitig aufnehmbare Apertur des Abbildungsobjektives ausfüllt. Der freie Durchmesser der Spiegelemente wird vor allen Dingen den Bedürfnissen einer hohen Flächendeckung im relevanten Beleuchtungsbündel mit "abbildenden Flächenanteilen" angepaßt, ohne daß es zu Flächenüberschneidungen von Spiegel zu Spiegel kommen darf. Das Verhältnis Spiegeldurchmesser zum mittleren Krümmungsradius ist für die meisten Anwendungsfälle sehr klein, so daß die Abbildung über die Spiegel im paraxialen Raum stattfindet. Damit die zwischen den Spiegeln liegenden Bereiche der Scheibe die Beleuchtungsverhältnisse nicht stören, können drei Wege beschritten werden: die "störenden" Flächenanteile der Spiegel-Scheibe werden technologisch geeignet geschwärzt, um eine Reflexion daran zu vermeiden und keinen Beleuchtungshintergrund zu erzeugen, die "störenden" Flächenanteile der Spiegel-Scheibe werden wie die eigentlichen Spiegelflächen verspiegelt; die Reflexion des einfallenden Beleuchtungsbündels auf

ebene Bereiche der Spiegel-Scheibe führt im Fall der Doppelscheibenanordnung auf Bereiche der Lochscheibe, die keine konfokalen Blenden enthält und somit das Störlicht vignettiert wird, die "störenden" Flächenanteile der Spiegel-Scheibe werden entspiegelt; das Falschlicht tritt durch die Spiegel-Scheibe und kann dort unproblematisch beseitigt werden.

Zusammenfassung der beigelegten Zeichnungen

Fig. 1: Anordnung mit Nipkow-Doppelscheibe für effektive konfokale Beleuchtung und Beobachtung,

Fig. 2: konfokale Anordnung mit Nipkow-Doppelscheibe und holographischen, den Beleuchtungswellenlängen angepaßten Abbildungselementen,

Fig. 2a: Anordnung für eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung mit Nipkow-Doppelscheibe und abbildenden Mikroelementen sowie Streulichtblende,

Fig. 2b: Anordnung für eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung mit Dx Dy scannender Doppelscheibe und abbildenden Mikroelementen sowie Streulichtblende,

Fig. 2c: Anordnung für eine Beleuchtung mit mehreren Laserquellen mit Dx Dy scannender Doppelscheibe und holographischen Abbildungselementen sowie Streulichtblende,

Fig. 2d: Anordnung für eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung mit stehender Doppelscheibe, stellbaren Blendenelementen und drehender Keilplatte sowie Streulichtblende,

Fig. 2e: konfokale stationäre Doppelscheiben-Anordnung mit stellbaren Pinholedurchmessern und zwei gegensinnig synchronisiert drehenden Keilplatten sowie holographischen Abbildungselementen für farblich korrekte Abbildung,

Fig. 4f: Anordnung für die Belichtung eines Hologrammes mit mehreren Laserquellen als einzelne Trägerscheibe und darauf entstehenden mikroholographischen Abbildungselementen,

Fig. 3: konfokale Anordnung mit Nipkow-Doppelscheibe und System aus abbildenden Spiegeln für effektive, farbbrichtige Beleuchtung und Abbildung bei Einsatz von Laserlichtquellen,

Fig. 3a: konfokale Tandem-Anordnung mit Nipkow-Doppelscheibe und modifizierte Köhlersche Beleuchtung sowie Teiler im parallelen Strahlengang und zusätzliche Streulichtblende,

Fig. 3b: konfokale, modifizierte Tandem-Anordnung mit Nipkow-Doppelscheibe und System aus Paaren von abbildenden Spiegeln und Blenden für Beleuchtung durch Laser mit Mehrfachlinien,

Fig. 4: konfokale, modifizierte Tandem-Anordnung mit Dx Dy scannender Doppelscheibe und angepaßter Köhlerscher Beleuchtung für konventionelle Linien- oder Bandenlichtquellen,

Fig. 4a: konfokale, modifizierte Tandem-Anordnung mit Dx Dy scannender Doppelscheibe aus periodischen Paaren von Mikrosiegeln und Blenden sowie diffraktiver Einkopplung mehrerer Laser,

Fig. 4b: konfokale, modifizierte Tandem-Anordnung mit Dx Dy scannender Doppelscheibe sowie dichroitische Einkopplung mehrerer Laser oder/und Laser mit Mehrfachlinien,

Fig. 4c: konfokale stationäre Doppelscheiben-Tandem-Anordnung mit stellbaren Pinholedurchmessern und synchron laufenden Keilplatten sowie dichroitische Einkopplung mehrerer Laser,

Fig. 4d: konfokale stationäre Doppelscheiben-Tan-

dem-Anordnung mit stellbaren Pinholedurchmessern und synchron-laufenden Ablenkplatten sowie diffraktiver Einkopplung mehrerer Laser.

Detaillierte Beschreibung der erfinderischen Anordnung anhand der Zeichnungen

In Fig. 1 ist der Stand der konfokalen Mikroskopie bei Scannern mit Nipkowscheibe schematisch dargestellt (EP 539691 A2). Die Anordnung zur Effektivierung der Beleuchtung besteht hauptsächlich aus zwei verbundenen optischen Trägerscheiben 1.1, 1.3:

— mit erstens einem System aus Spiralen mit Mikrolinsen 1.2 mit vorgewählter Brennweite und spezifischer Lage der Mikrolinsen zueinander, die einen hohen Bedeckungsgrad auf der Trägerscheibe 1.1 gewährleisten

— und zweitens einer unteren Trägerscheibe 1.3 mit konzentrisch zu den Mikrolinsen liegenden System aus Lochblenden 1.4, wobei die Trägerscheiben 1.1; 1.3 um eine gemeinsame Drehachse 1.5 rotieren. Das kollimierte Licht einer nicht dargestellten Laserlichtquelle 1.6 gelangt durch die Scheibenanordnung und ein Abbildungsobjektiv 1.7 in eine Objektebene 1.8. Das von der Objektebene zurückkehrende Licht wird von einem Strahlteiler 1.9 in Richtung einer Abbildungsoptik 1.10 umgelenkt, die das vom Abbildungsobjektiv 1.7 erzeugte Zwischenbild in eine Bildebene 1.11 abbildet.

Eine monochromatische Lichtquelle 1.6 (Laser) beleuchtet mit einem kollimierten Bündel eine Anzahl der Mikrolinsen 1.2, die die Punktlichtquelle in die zugeordneten Blenden 1.4 abbildet. Die Mikrolinsen 1.4 haben dabei eine lichtsammelnde Wirkung neben der Abbildungsfunktion. Die Dimensionierung der Abbildung erfolgt dergestalt, daß die Bilder der Lichtquelle innerhalb der Blenden 1.4 liegen und die bildseitige Bündelöffnung ausreicht, das eigentliche Abbildungsobjektiv vollständig auszuleuchten. Dies ist erforderlich, um die lateral-mögliche Auflösung der Abbildung des Objektes zu erreichen. Durch das Abbildungsobjektiv werden die sekundären Punktlichtquellen — das System aus leuchtenden Spiralknoten — in die Objektebene 1.8 abgebildet. So entsteht eine effektive, parallele konfokale Beleuchtung in der Objektebene 1.8, die bis zu 80% der Leuchtenenergie der Quelle ausnutzt.

Durch eine relativ schnelle Rotation des Doppelscheibensystems und eine geeignete Wahl der Form der Spiralen auf den Doppelscheiben ist die Beobachtung des Objektbildes in der Okularebene in Echtzeit für den Beobachter möglich. Die optische Bildwechselfrequenz kann durch die Wahl der Anzahl der Spiralarme und die Drehzahl der Doppelscheibe in einem weiten Bereich verändert werden und z. B. den Bedürfnissen der Beobachtung mit einer Kamera angepaßt werden (Anpassung auf Videofrequenz).

Zur Herstellung von Mikrolinsen sei nochmals auf DE 43 33 620 A1 sowie DE 43 14 574 A1 hingewiesen.

In Fig. 2 ist eine mögliche Ausführungsform gemäß Anspruch zur effektiven Beleuchtung mit mehreren farblich unterschiedlichen Beleuchtungsquellen für die konfokale Mikroskopie bei Scannern mit Nipkow-Doppelscheibe schematisch dargestellt. Die Anordnung besteht aus zwei verbundenen optischen Trägerscheiben:

— mit erstens einem System aus holographischen Elementen mit vorgewählter Übertragungslänge und spezifischer Lage und Größe der Abbildungselemente zueinander, die einen hohen Bedeckungsgrad mit abbildenden Flächenanteilen auf der Trägerscheibe gewährleisten soll.

— und zweitens einer unteren Trägerscheibe mit konzentrisch zu den holographischen Elementen liegenden Blenden, deren Abstand zueinander den Bedürfnissen einer konfokalen Wirkung entsprechen muß.

In einer oberen Trägerscheibe 2.1 sind mehrfachbelichtete holographische Elemente 2.2 vorgesehen, eine untere Trägerscheibe 2.3 weist optisch konjugierte Lochblenden 2.4 auf.

Beide Trägerscheiben 2.1; 2.3 rotieren um eine gemeinsame Drehachse 2.5.

Es sind mehrere Laserlichtquellen 2.6.1, 2.6.2, 2.6.3 dargestellt, wobei Laser 2.6.2 und 2.6.3 Einstrahlwinkel α , β zur Senkrechten aufweisen.

Die Beleuchtung erfolgt durch ein Abbildungsobjektiv 2.7 in Richtung einer Objektebene 2.8.

Dichroitische Teiler 2.9.1, 2.9.2, 2.9.3 sind wahlweise in den Strahlengang einschiebbar, wobei den Lasern ein entsprechend ihrer Wellenlänge als Kurzpaß abgestimmter Teiler zugeordnet ist, der das Laserlicht in Richtung der Objektebene 2.8 durchläßt und langwelligere Anteile in Richtung der Abbildungsoptik 2.10 und der Bildebene 2.11 reflektiert. Es können auch Teilerlemente vorgesehen sein, die für mehrere Laserwellenlängen gleichzeitig geeignet sind.

Die holographischen Elemente 2.2 müssen optisch korrekte, möglichst effektive Abbildungen verschiedener, ausgewählter Punktlichtquellen in das Blendensystem der unteren Scheibe 2.3 realisieren. Um sogar gleichzeitig verschiedene Wellenlängen zur Beleuchtung zur Verfügung zu haben werden die Punktlichtquellen vorzugsweise unter verschiedenen Einfallswinkeln zur Flächennormalen der oberen Trägerscheibe eingestrahlt. Diese Winkel werden vorbestimmt beim Design der holographischen Elemente. Dabei spielt eine hohe Beugungseffektivität in das für die Beleuchtung genutzte diffraktive Bild der Punktlichtquelle bei den geeignet gewählten Arbeitswellenlängen eine entscheidende Rolle. Die holographischen Elemente können dabei entweder in Transmission oder auch in Reflexion benutzt werden. Für die Arbeit in Reflexion wirkt in jedem Fall der dichroitische Teiler und die untere Scheibe (Abstand zur oberen Trägerscheibe) mit dem System von Blenden als körperliche Einschränkung für die Wahl eines Einfallswinkels. Die Laser 2.6.1, 2.6.2, 2.6.3 von Fig. 2 sollen die Möglichkeit der transmittiven Wirkung des Hologramms charakterisieren. Es sind sowohl Hologramme mit gemischter Arbeitsweise (transmittive und reflektive Nutzung) als auch Hologramme mit Anwendung nur der transmittiven oder der reflektiven Arbeitsrichtung anwendbar. Die einseitig genutzten Hologramme lassen eine allgemein höhere Beugungseffektivität zu. Die Mikro-Hologramme können erstens durch mathematische Verfahren berechnet werden, vorzugsweise in Form identischer Strukturen für alle Elemente des abbildenden Systems. Um für alle holographischen Elemente gleiche Wirkbedingungen bei der Beleuchtung zu haben, werden die Punktlichtquellen in Wellenbündel umgewandelt, die die erforderliche Fläche (annähernd gleich Abmaßen des Zwischenbildfeldes) am Ort der ersten Trägerscheibe vollständig ausfüllen müssen. Die

interessierenden Arbeitswellenlängen für das Hologramm werden vorrangig aus geeigneten Laserquellen ausgesucht, wobei die Wahl durch die Bedürfnisse der Fluoreszenzapplikation aber auch anderer optischer Anwendungen entscheidend geprägt wird. Die Wahl der Einfallswinkel wird, wie oben erwähnt, vorrangig durch die bei den gewählten Wellenlängen mögliche Beugungseffektivität aber auch durch konstruktive Randbedingungen der Anordnung bestimmt. Das entstehende nutzbare Beugungsbild der verschiedenen Punktlichtquellen muß bei allen gewählten Arbeitswellenlängen übereinstimmen, nämlich in Richtung des gewünschten Beleuchtungskanals senkrecht zu den Trägerscheiben liegen und die Blenden der zweiten Trägerscheibe sämtlich treffen. Diese vorausberechnete Eigenschaft ist entscheidend für die richtige Wirkung des optischen Bauelementes "Hologramm" im Bereich der Arbeitswellenlängen. Beim Design des Hologrammes wird für jede Arbeitswellenlänge eine Beugungsordnung als "Hauptbild" ausgewählt und die sekundären Beugungsordnungen wenig angeregt oder in einem Abstand zum Hauptbild angesiedelt, der den Bereich zwischen den Blenden des Blendensystems trifft. Hergestellt werden die synthetischen Hologramme mit höherer Beugungseffektivität vorrangig durch elektronenlithographische Belichtungsprozesse nach den berechneten Interferenzstrukturen. Die Auflösung der berechneten Interferenzstrukturen solcherart hergestellten Oberflächenhologramme wird begrenzt durch die beherrschbaren Datenmengen (Verarbeitungszeit) und die Breite der erzeugbaren Strichstrukturen (Strichanzahl pro Flächeneinheit). Eine weitere Möglichkeit zur Erzeugung eines Hologramms mit den erfinderisch vorteilhaften Wirkungen ist das experimentelle Aufzeichnen eines Vielfach-Hologrammes. In Fig. 4f ist das prinzipielle Aufzeichnungsverfahren für die Mehrfachbelichtung eines konzentrischen Mehrfachhologrammes dargestellt. Fig. 4f zeigt einen ersten kollimierten Laser 4.41, einen zweiten kollimierten Laser 4.42, ein Blendenarray 4.43, ein Mikrolinsenarray 4.44 sowie eine Trägerscheibe 4.45 mit Fotolack, Teilerspiegel 4.46, 4.47 sowie Umlenkspiegel 4.48, 4.49, 4.50, 4.51, 4.52, 4.53.

Für die Belichtung des Hologrammes werden zur Erzeugung der Signalwelle zwei Bauelemente eingesetzt: das sind erstens eine Anordnung von abbildenden Miniaturelementen auf einer ersten Trägerplatte 4.44 (Linsen, diffraktive Linsen wie z. B. Fresnellinsen) und als zweites konzentrisch zu den abbildenden Elementen liegende Blendenelemente auf einer zweiten Trägerplatte 4.43. Diese können nach bekannten Verfahren hergestellt werden (DE 43 14 574, DE 43 33 620). Die Dimensionierung der optischen Bauelemente (z. B. Brennweite, freier Durchmesser, Abstand untereinander) erfolgt nach konstruktiven Gesichtspunkten der endgültigen Doppelscheibenanordnung. Die Dimensionierung der Pinholegeometrie erfolgt nach Gesichtspunkten der Konfokalität der Doppelscheibenanordnung (Pinholedurchmesser, Pinholeabstand). Für die Herstellung des holographischen Originals sind Arbeitswellenlängen für die gewünschte Beleuchtungs-Applikation zu fixieren, die Einfallswinkel und -Richtung bei der Nutzung des Hologrammes wie auch die anderen konstruktiven Randbedingungen im oben erläuterten Sinne vorzubestimmen. Die Wellenlängen zur experimentellen Erzeugung eines Original-Hologrammes werden aber bestimmt durch die Empfindlichkeitsverteilungen geeigneter Photolacke auf einem optischen Träger, in die die Hologramme eingeschrieben werden. In Anlehnung zu

dem oben erläuterten Vorgehen werden für solche Schreib-Wellenlängen die erzeugenden Parameter wie Einfallswinkel und Wellenlänge des Referenzbündels sowie Abstand und Bündeldurchmesser der Signal-Punktlichtquelle berechnet. Mit diesen Parametern erfolgt die Belichtung des Original-Hologrammes in einem oder mehreren Schritten der Belichtung. Die Interferenzfähigkeit von Referenz- und Signalwelle wird erreicht durch die guten Kohärenzeigenschaften von Laserquellen speziell bei Einsatz von Gaslasern sowie durch Wahl annähernd gleich langer optischer Lichtwege im Strahlengang der Referenz- und Signalwelle. Eine gute Beugungseffektivität der holographischen Elemente bei den Arbeitswellenlängen wird durch eine "Verzerrung" der Interferenzstrukturen bei den Belichtungswellenlängen erreicht, d.h. wie schon erwähnt durch Änderung des Einfallswinkels der Referenzwelle sowie des Abstandes der Signalwellen vom Hologrammträger. Die beugende Wirkung eines Oberflächenhologrammes kann zusätzlich verbessert werden durch Herstellung eines Blazewinkels an den im Interferogramm entstehenden Belichtungsstrukturen. Eine hohe Beugungseffektivität wird ebenfalls erreicht, wenn das Hologramm als ein Volumen-Phasenhologramm ausgebildet wird. Anschließend erfolgen mehrere technologische Schritte der Fixierung, der Härtung, einer möglichen zusätzlichen strukturellen Prägung oder einer Zusatzbeschichtung des Hologrammes.

Geeignete Replikationstechniken gestatten eine vorteilhafte Vervielfachung des Original-Hologramme in Duplikat-Hologramme.

Zwischen den Trägerscheiben für die abbildenden Elemente und dem zugehörigen Blendensystem ist ein optischer Teiler angeordnet, der von den beleuchtenden Teilbündeln der Punktlichtquellenbilder durchstrahlt wird. Dieser Teiler hat die Aufgabe der Trennung von Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang. Vorzugsweise ist er als dichroitischer Teiler bei Fluoreszenzapplikationen ausgelegt und gestattet die räumliche Aufspaltung von Beleuchtungs- und Abbildungsbündel dergestalt, daß die holographischen Elemente im bildgebenden Strahlengang nicht wirksam sind. Damit bleiben die gesamten Korrekturen im Abbildungsstrahlengang erhalten und gestatten den Aufbau des gesamten konfokalen Bildes beim hohen Standard des Korrektionszustandes im System Objektiv-Okular. Der Teiler kann im Bedarfsfall den Eigenarten der Fluoreszenzbanden in Bezug zu den Anregungsbanden angepaßt sein und die Reflexionskanten entsprechend gelegt werden. Damit ist eine mehrfache Anregung mit verschiedenen Beleuchtungsquellen möglich, bei günstiger Lage der Reflexionskante des dichroitischen Teilers. Möglich ist auch ein Design mit mehrfachen Reflexionskanten bei geeigneten Paarungen Anregungs- zu Fluoreszenzbanden, die eine gleichzeitige Untersuchung mehrerer fluoreszierender Stoffe gestatten. Dies ist insbesondere bei Untersuchungen zu Prozeßabläufen vorteilhaft. Bei ungünstiger Lage der Absorptions- zur Fluoreszenzbande der fluoreszierender Stoffe ist der Wechsel des dichroitischen Teilers erforderlich, um die Trennung von Beleuchtung und Abbildung optimal zu erreichen, denn die Intensität von Fluoreszenzbildern ist, durch schlechte Fluoreszenzwirkungsgrade bedingt, bekanntermaßen sehr gering.

Trotz Rotation des Doppelscheibensystems für das Rastern des gesamten Objektfeldes und damit verschiedener Konstellationen der diffraktiven Abbildungselemente zur Beleuchtungsquelle ist eine korrekte Abbil-

dung der Beleuchtungsquelle in die jeweiligen Blenden möglich, da das Hologramm mit parallelen Bündeln beleuchtet wird und der Einfallswinkel beibehalten bleibt. Um den Rasterprozeß für die Objektebene günstig durchführen zu können, wird eine geeignete Anzahl und Form der Spiralen auf den Doppelscheiben gewählt. Dadurch ist auch im Fall mehrerer Lichtquellen und diffraktiver Abbildungselemente im Beleuchtungsstrahlengang die Beobachtung eines korrigierten farbigen Objektbildes in der Okularebene in Echtzeit für den Beobachter möglich. Für den Fall des Einsatzes einer Kamera für die Bildaufnahme muß zur korrekten Erfassung der Farbinformation des Fluoreszenzbildes entweder eine Farbkamera gewählt werden oder bei Einsatz mehrerer Schwarz-Weiß-Kameras eine Farbvorzerlegung in mehrere optische Kanäle erfolgen und zusätzliche kalibrierende Korrekturen an den Signalen der Schwarz-Weiß-Kameras vorgenommen werden. Für die Untersuchung von Prozessen bei gleichzeitiger Anwendung mehrerer Beleuchtungsquellen erscheint die Nutzung einer Farbkamera besonders sinnvoll, da verschiedene Fluoreszenzbanden dann gleichzeitig registriert werden können. Die optische Bildwechselfrequenz kann ebenfalls durch die Wahl der Anzahl der Spiralarms und die Drehzahl der Doppelscheibe in einem weiten Bereich verändert werden und z.B. den Bedürfnissen der Beobachtung mit einer Kamera angepaßt werden (Anpassung auf verschiedene Videofrequenzen oder Integrationszeiten der Kamera).

Eine weitere mögliche Ausführungsform für eine konfokale Beleuchtung und Abbildung mit einer Doppelnipkowscheibe und Einsatz einer Weißlichtquelle ist in Fig. 2a dargestellt.

Auf der Trägerscheibe 2.1 sind abbildende Mikroelemente wie Mikrolinsen 2.12 oder Hologramme v. gese-

hen. Einer Weißlichtquelle 2.13 ist eine Leuchtfeldblende 2.14, eine Kollektorlinse 2.15, eine Aperturblende 2.16, ein Umlenkspiegel 2.17, eine erste Feldlinse 2.18 sowie eine zweite Feldlinse 2.19 nach der unteren Trägerscheibe 2.3 nachgeordnet. Abbildungsseitig sind eine erste Linsengruppe 2.20, eine zweite Linsengruppe 2.21 und eine zwischen diesen liegende Streulichtblende 2.22 vorgesehen.

Die Beleuchtung mit einer Weißlichtquelle wird als eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung ausgelegt, wobei eine Vielzahl von Teilbildern der Leuchtfeldblende durch die abbildenden Mikroelemente in der Zwischenbildebene entstehen. Eine breitbandige Korrektur der Abbildung erscheint möglich, da der Kondensor der Köhlerschen Beleuchtung die abbildenden Mikroelemente mit einem parallelen Bündel beleuchtet und durch die Mikroelemente eine Fokussierung in die Zwischenbildebene erfolgt. Die Pinholes der unteren Scheibe begrenzen die Schar von Leuchtbündeln in konfokaler Weise. Jedes Teilbündel des entstehenden Arrays von Leuchtbündeln füllt die Apertur des Abbildungsobjektives aus. Dieses leuchtende Array wird durch das Abbildungsobjektiv in die Objektebene transformiert und dient der gleichzeitigen Beleuchtung vieler Objektpunkte. Das rückwärtig entstehende Bild läuft ebenfalls innerhalb der "Beleuchtungskanäle" und führt zu einem "punktuellen Zwischenbild" in der bildseitig ersten Zwischenbildebene. Hier erfolgt durch die Pinholes der unteren Scheibe die bildseitig entscheidende konfokale Beschneidung des Arrays von Bildteilbündeln. In der Nähe der Zwischenbildebene befindet sich eine Feldlinsengruppe, die die Austrittspupille des Abbildungsob-

jektives ins unendliche abbildet. Das in Richtung Bildebene laufende Licht wird durch ein optisches Teilerlement körperlich vom Beleuchtungsstrahlengang abgekoppelt. Die Linsengruppe 2.20 bildet das telezentrische "gerasterte Bildbündel" in eine Ebene ab, in der eine einzelne Blende 2.22 angeordnet ist. Diese Blende wirkt nun zusätzlich wie eine Streulichtblende für den Bildaufbau, da sie in der Brennebene des Linsensystems 2.20 steht.

Die Linsengruppe 2.21 bildet gemeinsam mit Linsengruppe 2.20 die bildseitig erste Zwischenbildebene telezentrisch in eine Bildebene 2.11 ab. In dieser Bildebene kann entweder mit dem Auge oder einer Kamera ein "Rasterbild" beobachtet werden. Durch die Rotation der Nipkow-Doppelscheibe wird das gesamte Objektfeld gescannt und ein lückenloses Bild mit einer Bildwechsel-
frequenz entsprechend der Drehzahl, der Anzahl und der Steigung der Spiralen der Nipkow-Doppelscheibe aufgebaut. Die Form sowie der Abstand der abbildenden Mikroelemente auf der Nipkow-Doppelscheibe bestimmen solche Parameter wie die Gleichmäßigkeit der Bildfeldausleuchtung und den Kontrast des konfokalen Bildes. Die Drehzahl bestimmt weiterhin die Helligkeit des Bildes und muß bei Einsatz einer Beobachtungskamera mit selbiger synchronisiert werden, d. h. die Kamera durch einen Sensor an der Welle der Nipkow-Doppelscheibe in irgend einer Weise getriggert werden. Die Helligkeit des Bildes wird natürlich primär durch die Leuchtdichte der Lichtquelle und den durch den Kollektor erfaßten ausgeleuchteten Raumwinkel in Bezug auf die Lichtquelle vorbestimmt.

Eine weitere vorteilhafte und einfache Ausführungsform für eine konfokale Beleuchtung und Abbildung, aufgebaut aus zwei Trägerscheiben mit einem achssymmetrischen Array von Abbildungselementen und paarweise zu jedem Abbildungselement zugeordneten Pinhole ist in Fig. 2b dargestellt. Das abbildende Array ist aus annähernd gleichen optischen Elementen wie in Fig. 2a aufgebaut.

Dargestellt ist eine obere Scheibe 2.23 mit abbildenden Mikroelementen 2.24, eine untere Scheibe 2.25 mit Lochblenden 2.26 sowie Ansteuermittel 2.27 zur Erzeugung einer gleichzeitigen x-y-Scanbewegung der Bewegung der Scheiben 2.23 und 2.25.

Die Strukturen auf beiden Trägerscheiben sind in der geometrischen Anordnung der abbildenden Elemente bzw. der Pinholes zueinander einfacher aufzubauen als eine Nipkow-Doppelscheibe mit aufwendigeren Spiralstrukturen und vor allem entscheidend kleiner in den Abmaßen. Auch eine empfindliche punktsymmetrische Zentrierung der Trägerscheibe zu einer Drehachse entfällt auf Grund nicht vorhandener zentraler Symmetrie der aufgebrachten Strukturen. Die azimutale Justierung, die Parallelausrichtung der Scheiben sowie die konzentrische Ausrichtung der Strukturen zueinander bleibt jedoch als kritische Justieraufgabe der Doppelscheibenanordnung. Die Beleuchtung mit einer Weißlichtquelle wird ebenfalls als eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung ausgelegt. Die abbildenden Mikroelemente erzeugen wiederum eine Vielzahl von Teilbildern der Leuchtfeldblende in der Zwischenbildebene. Die Symmetrie der Strukturen kann flächig zweiachsig (rhombisch, quadratisch, rechteckig) oder dreiachsig (hexagonal) gewählt werden, wobei die hexagonal dichteste Anordnung die höchste Beleuchtungseffektivität bieten. Durch die hohe Symmetrie der Anordnung braucht das Array nur um einen Abstand der Elemente untereinander senkrecht zu den Symmetrieachsen bewegt werden, um

die Objektebene vollständig dicht zu scannen. Auch eine Rasterbewegung um jeweils die Hälfte des Abstandes der Elemente in zwei respektive drei orthogonale Richtungen ist möglich. Wie in jeder Auflichtanordnung sind Teilerlemente erforderlich, die hier als mehrere Wechselemente dargestellt sind, um die Möglichkeit spektral selektiver Trennung des Bildstrahlenganges von der Beleuchtung zu repräsentieren.

Eine nächste vorteilhaft einfache Ausführungsform für eine konfokale Beleuchtung und Abbildung, aufgebaut aus zwei Trägerscheiben mit einem achssymmetrischen Array von holographischen Abbildungselementen und paarweise zu jedem holographischen Abbildungselement zugeordneten Pinhole ist in Fig. 2c dargestellt.

Hier sind mehrere Laser vorgesehen, die unter verschiedenen Winkeln kollimiert einstrahlen (analog Fig. 2), wobei die obere Scheibe 2.23 holographische Elemente mit wellenlängenabhängiger Ablenkung trägt.

Das holographische Array ist den Bedürfnissen einer Beleuchtung mit mehreren spektral unterschiedlichen Lasern, die zur gleichen Zeit eingesetzt werden können, angepaßt. Das Design der mikro-holographischen Abbildungselemente ist wie bei der Nipkow-Doppelscheibenanordnung von Fig. 2 auf die farblich korrekte und effektive Abbildung von ausgewählten Laser-Punktlichtquellen senkrecht zur Trägerscheibe optimiert.

Analog wie bei Fig. 2b wird zum approximierten Scannen der Objektebene eine kleine exzentrische Raster- oder Taumelbewegung mit der Doppelscheibenanordnung durchgeführt.

Eine nicht dargestellte Variante eines Arrays holographischer Mikroelemente ist die Möglichkeit, die Beleuchtungsquellen sämtlich austauschbar als ebene Bündel senkrecht auf die Trägerscheibe zu richten und zur chromatischen Korrektur jeder Einzelquelle ein zusätzliches, refraktives Element z. B. als Aufsatz- oder Vorsatzlinse vor einem — jetzt wirklich farblich spezifischen — Teilerlement einzusetzen. Die Problematik eines axialen Hologrammes ist die zu erwartende geringe Beugungseffektivität.

Eine besonders vorteilhafte Ausführungsform für die mechanische Scannerbewegung bei einer konfokalen Beleuchtung und Abbildung, ebenfalls aufgebaut aus zwei Trägerscheiben mit einem achssymmetrischen Array von Abbildungselementen und paarweise zu jedem Abbildungselement zugeordneten Pinhole ist in Fig. 2d dargestellt. Das abbildende Array ist aus den gleichen optischen Elementen wie in Fig. 2b aufgebaut.

Eine erste untere Scheibe 2.251 mit Lochblenden sowie eine zweite untere Scheibe 2.252 mit Lochblenden sind über Zustellmittel 2.28 gegeneinander zur Einstellung der Lochgröße verschiebbar.

Eine Keilplatte 2.29 ist über Drehmittel 2.30 ansteuerbar im zwischen einer Tubuslinse 2.31 und dem Abbildungsobjektiv 2.7 verlaufenden parallelen Strahlengang angeordnet.

Die Strukturen auf beiden Trägerscheiben sind in der geometrischen Anordnung der abbildenden Elemente bzw. der Pinholes zueinander ebenfalls gleich. Eine Approximation des "differentiellen Scannens" des leuchtenden Arraybüschels quer zur Objektebene wird durch eine drehende Keilplatte im parallelen Strahlengang zwischen Tubuslinse und Objektiv erreicht. Dicke und Keil der Platte werden geeignet gewählt, um sowohl Gesichtspunkten der optischen Korrektur als auch der Möglichkeit des feinen Scannens Rechnung zu tragen. Die Keilplatte kann, wie weiter hinten dargestellt, durch

eine zweite Keilplatte mit gegensinnig synchronisierter Drehung ergänzt werden und damit die Scanbewegung des Büschels als eine flächendeckende, mäanderförmige Bewegung mit geringer Steigung ausgelegt werden. Beim Bildstrahlengang wird das Büschel der leuchtenden Arraypunkte beim rückwärtigen Durchtritt durch die Keilplatte wieder in die ursprüngliche Lage versetzt und geht durch das Array der konfokal wirkenden Pinholes. Durch die stationäre Anordnung der Doppelplatten 2.251, 2.252 ist ein vorteilhaftes Zustellen der Pinholedurchmesser durch relatives Verschieben zweier deckungsgleicher Pinhole-Trägerscheiben zueinander realisierbar. Dies ist sinnvoll für die flexible Einstellung der konfokalen Wirkung der Pinholes für verschiedene Applikationsfälle sowie die optimale Anpassung der konfokalen Blenden an das individuelle Beugungsverhalten verschiedene Wechselobjektive (Durchmesser Airyscheibchen). Die Beleuchtung mit einer Weißlichtquelle wird ebenfalls als eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung ausgelegt. Eine weitere Variante mit einer einfachen Ausführungsmöglichkeit für eine konfokale Beleuchtung und Abbildung, aufgebaut aus zwei Trägerscheiben mit einem achsymmetrischen Array von holographischen Abbildungselementen und paarweise zu jedem holographischen Abbildungselement zugeordneten Pinhole ist in Fig. 2e dargestellt.

Auf der oberen Trägerscheibe sind zur Abbildung auf die Lochblenden einfachbelichtete Hologramme 2.30 vorgesehen, wobei ein erster Laser 2.32 als Punktlichtquelle, ein zweiter Laser 2.33 als Punktlichtquelle und ein dritter Laser 2.34 als außerhalb der Zeichenebene liegende quasi kollimierte Punktlichtquelle mit Einstrahlwinkeln zur Senkrechten α , δ , ε vorgesehen sind. Jede Punktlichtquelle hat erfindungsgemäß einen anderen Abstand zur oberen Trägerscheibe 2.23.

Beispielsweise hat der erste Laser eine Wellenlänge im blauen Bereich und einen geringeren Abstand als der zweite Laser im grünen und der dritte Laser im roten Bereich.

Die Wahl der Winkel und die Wahl des Abstands hängt von der Wellenlänge ab, wobei jeweils auf die untere Trägerscheibe jeder Laser als senkrechte, reproduzierte Welle einfällt.

Eine erste Keilplatte 2.291 und eine zweite Keilplatte 2.292 werden über Ansteuerermittel 2.271 gegensinnig mit synchroner Geschwindigkeit im Strahlengang gedreht.

Das holographische Array ist wiederum den Bedürfnissen einer Beleuchtung mit mehreren spektral unterschiedlichen Lasern, die zur gleichen Zeit eingesetzt werden können, angepaßt. Das Design der mikro-holographischen Abbildungselemente ist wie bei der Doppelscheibenanordnung von Fig. 2c auf die farblich korrekte und effektive Abbildung von ausgewählten Laser-Punktlichtquellen senkrecht zur Trägerscheibe optimiert. In der Fig. 2e wird ein einfach belichtetes Mikro-hologramm eingesetzt, das mit mehreren Referenzwellen unterschiedlichen Neigungswinkels und Abstandes zum Hologrammträger reproduziert wird. Die gebeugten, arrayartig angeordneten Signalwellen entstehen alle senkrecht zum Hologrammträger und konvergieren für alle vorgewählte Arbeitswellenlängen in den Pinholes der zweiten Trägerscheibe. Zum Scannen des leuchtenden Arraybüschels quer zur Objektebene wird ein drehendes Keilplattenpaar im parallelen Strahlengang zwischen Tubuslinse und Objektiv eingesetzt. Die Ablenkeinheit arbeitet als gegensinnig synchronisiert umlaufendes Keilpaar und führt eine Scanbewegung des Büschels als Mäanderbewegung aus. Die stationäre An-

ordnung der Doppelplatten gestattet auch hier das Zustellen der Pinholedurchmesser durch relatives Verschieben zweier deckungsgleicher Pinhole-Trägerscheiben zueinander.

5 Eine dritte mögliche Ausführungsform, gemäß Anspruch zur effektiven Beleuchtung mit mehreren unterschiedlichen Beleuchtungsquellen, ist in Fig. 3 schematisch dargestellt.

Sie zeigt eine obere Trägerscheibe 3.1 mit abbildenden Spiegeln 3.2, eine untere Trägerscheibe 3.3 mit zentralsymmetrischen Lochblenden 3.4 und einer gemeinsamen Drehachse 3.5.

Eine polarisierte Lichtquelle 3.6, wobei die Pfeilrichtung die Polarisierungsrichtung darstellt, strahlt über einen Polteiler 3.7 und einen Phasenschieber 3.8 auf die abbildenden Spiegel 3.2, die die Lichtquelle auf die Lochblenden 3.4 abbilden. Über Umlenkspiegel 3.91, 3.92, 3.93, 3.94, wobei die schraffierten Spiegelflächen F1, F2 der Umlenkspiegel 3.93, 3.94 bezüglich ihrer Flächennormalen zueinander senkrecht orientiert sind, was eine Bildumkehr bewirkt, so daß ein Spiegelbild des Beleuchtungsarrays wieder aufrecht auf die Lochblenden der Scheibe 3.3 fällt, wodurch die bei einer Tandemanordnung mit archimedeschen Spiralen erforderliche Punktsymmetrie der Spiralaare berücksichtigt wird, erfolgt eine Beleuchtung des Objektes sowie eine Übertragung der vom Objekt kommenden Strahlung. Dichroitische Teilerlemente 3.101, 3.102, 3.103 sind wiederum analog Fig. 2 einschiebbar vorgesehen und vorteilhaft in Richtung der Bildebene als Langpässe ausgebildet. Ein Abbildungsobjektiv 3.11 ist in Richtung der Objektebene 3.12 vorgesehen.

In Richtung der Bildebene 3.15 sind Umlenkspiegel 3.13 sowie Abbildungselemente 3.14 vorgesehen.

Die Anordnung ist besonders vorteilhaft im Fall der Anwendung von kontinuierlichen Weißlichtquellen aber auch bei der Beleuchtung mit verschiedenfarbigen Lasern oder Mehrlinienlasern. Die Anordnung besteht auch hier aus zwei verbundenen optischen Nipkow-Trägerscheiben, die in einer Tandem-Anordnung benutzt werden:

— mit erstens einer optischen Anordnung aus sphärischen oder asphärischen Spiegelementen mit vorgewählter Brennweite und spezifischer Lage und Größe der Abbildungselemente zueinander, welche ebenfalls einen hohen Bedeckungsgrad auf der Trägerscheibe gewährleisten soll

— und zweitens einer unteren Trägerscheibe mit konzentrisch zu den Spiegelementen liegenden Pinholes, deren Abstand zueinander den Bedürfnissen einer konfokalen Wirkung entsprechen muß.

Die Herstellung von Anordnungen von Mikrospiegeln auf einem Substrat erfolgt analog dem Vorgehen zur Erzeugung von refraktiven Strukturen auf einer Trägerplatte. Die farbrichtige Abbildung von verschiedenen Punktlichtquellen ist den Spiegeln generell innewohnend wozu positiv der geringere sphärische Fehleranteil gegenüber refraktorischen Linsen gleicher Brechkraft kommt. Das Problem der effektiven Ausnutzung der Leuchtenergie der Lichtquelle wird erfindungsgemäß durch Einsatz eines breitbandig wirksamen Polarisationssteilers im vorderen Teil der Beleuchtungsanordnung gelöst. Die Lichtquelle muß dazu allerdings linear polarisiert sein oder werden, um mit Hilfe eines Phasenschiebers — der hier doppelt durchlaufen wird — und nach der reflektorischen Abbildung an dem Array aus

Mikrospiegeln mit um 90° verdrehter Polarisationsrichtung den Polarisationssteiler mit optimaler Beleuchtungsenergie zu durchstrahlen. In jeder Blende des Arrays erscheint nun wieder die Lichtquelle als Bild in verschiedenen möglichen Farben. Beim Einsatz einer Entladungslichtquelle kann für eine optimale Wirkung des Phasenschiebers ein Schmalbandfilter zur spektralen Einschränkung der Linien oder Banden der Lichtquelle benutzt werden. Bei einem Wechsel des Spektralbereiches muß der Phasenschieber ($\lambda/4$ -Platte) ausgetauscht oder der neuen Wellenlänge durch Justierung angepaßt werden. Als eine Variante der kontinuierlichen Phasenschiebung bietet sich z. B. ein Babinet-Soleil-Phasenschieber an.

Zur Erläuterung des Aufbaus eines konfokalen Mikroskopes mit einer Weißlichtquelle und guter Beleuchtungseffektivität soll Fig. 3a dienen.

Sie beinhaltet die Anordnung einer Weißlichtquelle 3.16, einer Leuchtfeldblende 3.17, einer Kollektorlinse 3.18, einer Aperturblende 3.19 vor einem Strahlteiler 3.20, einer ersten Feldlinse 3.21 vor dem Strahlteiler, einer zweiten Feldlinse 3.22 in Richtung der Bildebene sowie von Tubuslinsen 3.23 im Strahlengang von und zu der zweiten Trägerscheibe 3.3.

Einem zwischen den Trägerscheiben 3.1, 3.3 angeordneten Umlenkelement 3.24 ist eine erste Linsengruppe 3.25, eine zweite Linsengruppe 3.26 sowie eine zwischen diesen liegende Streulichtblende 3.28 nachgeordnet.

Ein chromatisches Zusatzobjektiv 3.29 mit definierendem Farbbläugsfehler ist hier vor der Objektebene 3.12 vorgesehen, um eine Farbtrennung und damit eine Erhöhung der Tiefenauflösung bei der Erfassung der Oberflächentopologie zu erzielen (siehe den vergrößerten Ausschnitt).

Für eine konfokale Beleuchtung mit kontinuierlichem weißen Licht ist der Einsatz eines farbneutralen 50 : 50 Strahlenteilers möglich, bei Einschränkung der Beleuchtungseffektivität auf ca. 25% gegenüber der maximal möglich übertragbaren Beleuchtungsenergie bei Einsatz eines Polarisationssteilers. Dieser Nachteil erscheint aber gering gegenüber dem Vorteil der korrekten, beleuchtungseffektiven vielfachen Abbildung von Flächenanteilen der Weißlichtquelle in die Ebene des Blendenarrays, um eine parallele konfokale Beleuchtung für weißes Licht zu erzeugen. Um die Abbildung der Leuchtfeldfläche der Quelle praktisch optisch zu realisieren wird wie in Fig. 2a eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung angewendet. Dazu sitzt der Kollimator-Kondensor der Köhlerschen Beleuchtung direkt vor der oberen Nipkowscheibe mit den Elementen aus Mikrospiegeln und bildet die Aperturblende ins unendliche ab. Die Mikrospiegel wiederum bilden — jeder für sich — Flächenanteile der Leuchtfeldblende koinzident in die Pinholes der unteren Scheibe der Nipkow-Doppelscheibenanordnung ab (sogenannte "kritische Beleuchtung"). Das optische Teilereslement zur Trennung von Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang kann bei einer Weißlichtquelle ein 50 : 50 Strahlenteiler sein, der vorrangig bei "normaler Auflichtbeleuchtung" und Beobachtung unterschiedlichster Applikation günstig eingesetzt werden kann. Der entscheidende Vorteil ist vor allem aber die konsequente Konfokalität der Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengänge und die farbkorrekte Beobachtungsmöglichkeit mit dem Auge und/oder einer Kamera.

Eine Variante der Anordnung mit Elementen aus Mikrospiegeln auf einer Nipkow-Doppelscheibe ist in Fig. 3b dargestellt.

Als Lichtquelle ist ein polarisierter Multilinielaser 3.30 vorgesehen.

Lochblendenspiralen 3.31 sind als archimedische Spiralen ausgebildet.

Der Einkoppelort der Beleuchtung 3.32 liegt hier, um Justierprobleme zu vermeiden, nicht wie in vorhergehenden Darstellungen um 180° versetzt, sondern um 90° versetzt zum Auskoppelort des Bildes 3.33. Hierzu sind auf der oberen Trägerscheibe vier archimedische Spiralen erforderlich, damit die Deckungsgleichheit gewährleistet ist.

Die Strahlteiler 3.101, 3.102, 3.103 sind funktionsgleich wie in Fig. 3, rücken aber enger zusammen.

Die Anzahl der Lochblendenspiralen 3.31 beträgt je nach Versatzwinkel $360^\circ/\text{Winkel in Grad}$.

Diese Variante paßt sich besser den realen Verhältnissen am Weißlicht-Auflichtmikroskop an, da die Teilereslemente dem Repertoire dieser Gattung Mikroskope entnommen werden können. Sie sind von den Korrekturen dem Einsatz im parallelen Strahlengang zwischen Tubuslinse und Objektiv angepaßt. Um weiterhin eine kontrastreiche parallele konfokale Beleuchtung zu erreichen muß auf der Scheibe mit den Mikrospiegeln eine konsequente Beseitigung von Falschlicht vorgenommen werden. Das kann durch optimales Schwärzen der zwischen den Spiegeln liegenden Bereichen der Scheibe erfolgen, damit diese nicht zur Abbildung der Leuchtfeldblende in irgend einer Form beitragen können. Eine andere Variante der Beseitigung von Falschlicht ist das Entspiegeln der zwischen den Spiegelementen liegenden Scheibenbereiche, womit das Licht der Quelle in diesen Bereichen durch die Trägerscheibe durchtritt und keine negativen Auswirkungen im Beleuchtungsstrahlengang hat.

In der Anordnung nach Fig. 3b wird eine den Nipkow-Tandem-Anordnungen innewohnende Problematik entschärft, nämlich — neben dem Einsatz von vielen Umlenk- und Umkehrelementen — die Empfindlichkeit auf Dezentrierungen der Scheibenstrukturen zur Drehachse. Sie zeigt sich u. a. in einer zusätzlichen Helligkeitsmodulation im Bild — stärker als in einfachen Nipkowanordnungen. Die Modifikation der klassischen Tandemanordnung — 180° gegenüber der Drehachse stehende Strahlengänge — in Fig. 3b erreicht eine Verringerung der Empfindlichkeit auf Dezentrierung, indem Beleuchtungs- und Beobachtungsstrahlengang sich räumlich nähern und dadurch die Zusatzmodulation verringert wird.

Die effektive Einkopplung eines Lasers in den Hauptstrahlengang erfordert den Einsatz eines Polarisationssteilers. Die für die Drehung der Polarisationssebene nötige Phasenverschiebung von 90° wird bekanntlich nach doppelten Durchlaufen einer $\lambda/4$ -Platte für eine spezielle Wellenlänge erreicht. Für einen Mehrlinienlaser muß bei Wechsel der Einsatzwellenlänge der Phasenschieber angepaßt werden. Bei justierbaren Phasenschiebern wird dies funktionsgerecht durch Ändern der relativen optischen Dicke des Phasenschiebers erreicht (Babinet Soleil Kompensator). Die Auskopplung des Beobachtungsstrahlenganges aus dem Hauptstrahlengang erfolgt vorrangig durch spektral selektive Teilereslemente wie dichroitische Spiegel oder Banden-selektive Spiegel, die wiederum dem Repertoire der Gattung konventionelle Auflichtmikroskope entnommen werden können. Die Dimensionierung vor allem der Brennweite und der wirksamen Durchmesser der Mikrospiegel muß auf die zusätzlichen optischen Bauelemente zwischen den Trägerplatten abgestimmt sein und erfordert min-

destens die Verdoppelung der Brennweite gegenüber dem Typ mit Durchlichtbeleuchtung an der oberen Nipkowscheibe.

In Fig. 4 ist eine weitere vorteilhafte Vereinfachung der Tandem-Anordnungen für den Einsatz von Paaren aus Mikrospiegeln und Pinholes für die parallele konfokale Beleuchtung bzw. Abbildung schematisch dargestellt.

Dargestellt ist eine obere Scheibe 4.1 mit Mikrospiegeln 4.2, eine untere Scheibe 4.3 mit Lochblenden 4.4 dar, wobei eine Weißlichtquelle 4.5 mit nachgeordneter Leuchtfeldblende 4.6, Kollektor 4.7, Aperturblende 4.8, Kollimator 4.9 sowie ein Teiler 4.10 zwischen den Scheiben vorgesehen ist.

Unterhalb der unteren Scheibe 4.3 sind Tubuslinsen 4.12 sowie Spiegel 4.13, 4.14, 4.15 und wahlweise ein-schiebbare Teilerlemente 4.151, 4.152, 4.153 analog bisheriger Ausführungen vorgesehen, des weiteren ein Ab-bildungsobjektiv 4.16 vor der Objektebene 4.17.

In Richtung der Bildebene 4.24 ist eine Feldlinse 4.18 sowie nach der Scheibe 4.3 ein Spiegel 4.19, eine erste Linsengruppe 4.20, eine Streulichtblende 4.21 sowie eine zweite Linsengruppe 4.23 vorgesehen.

Eine Ansteuereinheit 4.25 dient der gemeinsamen Bewegung der Scheiben 4.1, 4.3.

Die Nipkow-Doppelscheibe wird hierbei durch eine Tandem-Doppelplattenanordnung ersetzt, die oben Mikrospiegel enthält, welche in axialer Symmetrie angeordnet sind und mit den Pinholes konzentrische Paare bilden. Der Aufwand zur Herstellung und Justierung solch einer optischen Gruppe im Vergleich zur Nipkow-Doppelscheibe ist erheblich reduziert. Wie bei den Nipkow-Scheibenscannern ist bei der Dimensionierung der Arrays aus Mikrospiegeln auf die richtige Dimensionierung der "Rasterkonstante" — des Abstandes aller Elemente aus Mikrospiegeln bzw. der Pinholes im Array untereinander — zu achten, um die Vermischung von nicht eineindeutig einander zugeordneten Bündeln zu minimieren. Das optisch dichte Rastern des Objektfeldes mit parallelen konfokalen Bündeln in Beleuchtung und Abbildung wird durch eine — im Vergleich zu den Abmaßen des gesamten Arrays — "differentielle Scannbewegung" erreicht. Mechanisch kann das dichte Rastern durch z. B. eine exzentrische Taumelbewegung der gesamten Einheit "Tandem-Doppelplatte" annähernd erreicht werden, was mechanisch relativ leicht umzusetzen ist. Wie schon beim Einsatz von Nipkow-Doppelscheiben ist zur Erzielung eines kontrastreichen Arrays aus Leuchtbündeln auf die Wirkung des Falschlichtes von der Trägerplatte des Arrays zu achten. Dazu müssen die zwischen den Mikrospiegeln befindlichen Zonen konsequent geschwärzt oder gut transmittiv sein, um ein Beleuchtungsarray in der Zwischenbildebene mit hohem Kontrast (Bildgüte der Quelle) und geringem Untergrund (Streu- oder Falschlicht der Trägerscheibe) zu haben. Die Unterdrückung von Falsch- oder Streulicht der Spiegel-Trägerscheibe gelingt vor allem auch durch die 2. Scheibe mit den konzentrisch zu den Mikrospiegeln liegenden Pinholes. Das Einkoppeln der Leuchtquelle in den Hauptstrahlengang erfolgt wie in den Fig. 3b, 3c, 3d mit Hilfe von optischen Teilern oder Polarisierungsteilern. Auch das Auskoppeln des Abbildungszweiges aus dem Hauptstrahlengang erfolgt analog den Fig. 3b, 3c, 3d mit vorrangig farblich selektiven Teilerlementen. Um die gesamte Anordnung konsequent kontrastreich auszuführen, wird wiederum die 2. Stufe des Abbildungsstrahlenganges telezentrisch mit einer einzelnen stellbaren Streulichtblende ausgestattet.

In Fig. 4a ist die Anordnung 4 für die diffraktive Einkopplung von mehreren Laser in den Beleuchtungsstrahlengang ausgeführt.

Die Laser können sowohl gleichzeitig als auch nacheinander eingestrahlt werden.

Fig. 4a zeigt Laserlichtquellen 4.26, 4.27, 4.28, die über ein diffraktives Element 4.29, hier ein Dispersionsgitter, unter verschiedenen Winkeln entsprechend ihrer Wellenlänge in den Strahlengang eingekoppelt werden.

In Fig. 4b ist als Beleuchtungsquelle ein polarisierter Multilinielaser eingesetzt oder es werden mehrere unterschiedliche Laserquellen über eine spektral selektive Einkopplung (dichroitische Mischerspiegel) in den Beleuchtungsstrahlengang eingekoppelt.

Ein polarisierter Multilinielaser 4.30 sowie zweiter Laser 4.301 werden über einen dichroitischen Mischerspiegel 4.33 eingekoppelt.

Die effektive Einkopplung in den Beleuchtungsstrahlengang gelingt wieder durch einen Polarisierungsteiler als Teiler; für eine gleichzeitige Einkopplung vieler Quellen läßt sich auch ein farbneutraler 50 : 50% Teiler anstelle des Polteilers einsetzen.

Dem Polteiler ist in Richtung der Mikrospiegelscheibe ein Phasenschieber 4.11 zugeordnet.

Eine ähnlich wie in Fig. 2d wirkende, vorteilhafte Ausführungsform für die mechanische Scannerbewegung bei einer konfokalen Beleuchtung und Abbildung ist in Fig. 4c dargestellt.

Sie zeigt eine zweite Lochscheibe 4.31 sowie Zustellmittel 4.32 zur Einstellung der Lochgröße, erste und zweite drehbare Keilplatte 4.34 im parallelen Strahlengang sowie Ansteuermittel 4.35 für die Keilplatten 4.34.

Das abbildende Array ist wiederum aus Mikrospiegeln aufgebaut. Eine Approximation des "differentiellen Scannens" des leuchtenden Arraybüschels quer zur Objektebene wird in der Tandemanordnung durch ein gleichsinnig drehendes, aber 180° phasenverschoben wirkendes Paar aus Keilplatten im parallelen Strahlengang zwischen Tubuslinse und Objektiv erreicht. Dicke und Keil der Platten werden geeignet gewählt, um sowohl Gesichtspunkten der optischen Korrektur als auch der Möglichkeit des approximierten Scannens Rechnung zu tragen. Beim Bildstrahlengang wird das Büschel der leuchtenden Arraypunkte beim rückwärtigen Durchtritt durch die Keilplatte wieder in die ursprüngliche Lage versetzt und geht anschließend durch das Array der konfokal wirkenden Pinholes. Durch die stationäre Anordnung der Doppelplatten ist ein vorteilhaftes Zustellen der Pinholedurchmesser durch relatives Verschieben zweier deckungsgleicher Pinhole-Trägerscheiben zueinander realisierbar. Dies ist sinnvoll für die flexible Einstellung der konfokalen Wirkung der Pinholes für verschiedene Applikationsfälle sowie die optimale Anpassung der konfokalen Blenden an das individuelle Beugungsverhalten verschiedene Wechselobjektiv (Durchmesser Airyscheibchen). Ein optischer Vorteil von Tandemanordnungen ist die gute Trennung von Falsch- oder Streulicht der Beleuchtung (Wirkung der Flächen zwischen Pinholes und/oder Linsenelementen!) vom eigentlichen Bildaufbau, was in der Anordnung laut Fig. 4c positiv zu Buche steht.

Eine weitere Variante mit einer Ausführungsmöglichkeit für eine konfokale Beleuchtung und Abbildung ist in Fig. 4d dargestellt.

Es sind die bisherigen Keilplatten im parallelen Strahlengang durch eine erste und zweite drehbare parallele Ablenkplatte 4.36, 4.37 im divergenten Strahlengang zwischen Tubuslinsen 4.12 und unterer Scheibe vorge-

sehen, sowie diesen zugeordnete Ansteuermittel 4.38 zur mittels Pfeilen dargestellten Drehung und gleichzeitigen Verkipfung in Richtung der optischen Achse.

Die Mischung von spektral unterschiedlichen Lasern in den Beleuchtungsstrahlengang erfolgt hier mit einem planen, diffraktiven Element, wodurch die Laser wie in Variante 4c zur gleichen Zeit eingesetzt werden können. Zum Scannen des leuchtenden Arraybüschels quer zur Objektebene wird in dieser Tandem-Anordnung ein synchron drehendes Paar von Planplatten vor respektive hinter der Tubuslinse eingesetzt. Die Ablenkbarkeit kann z. B. einseitig angetrieben sein und durch einen Zahnriementrieb synchronisiert werden. Die Planplatten sind gegensinnig zueinander geneigt (180° phasenverschoben) und können zur Realisierung einer weiteren Scanrichtung ("differentielle Archimedische Spiralen") synchron zusätzlich leicht verkippt werden. Die stationäre Anordnung der Doppelplatten gestattet auch hier das Zustellen der Pinholedurchmesser durch relatives Verschieben zweier deckungsgleicher Pinhole-Trägerscheiben zueinander.

In Fig. 4e ist eine vorteilhafte Variante einer Tandem-Anordnung mit Paaren aus strukturierten Mikrospiegeln und Pinholes für eine parallel konfokale, partielle Dunkelfeld-Beleuchtung bzw. Abbildung schematisch dargestellt. Sie zeigt abbildende Spiegelemente 4.39 als hohle Lichtkegel 4.40 erzeugende Mikroringspiegel, wie in dem vergrößerten Ausschnitt dargestellt, zur Dunkelfeldbeleuchtung.

Die Beleuchtung mit einer Weißlichtquelle ist vorteilhaft als modifizierte köhlersche Beleuchtung ausgelegt.

Jeder oben befindliche Mikrospiegel ist ringförmig, ringsektoriell oder ähnlich geartet strukturiert und bildet mit jeweils einem Pinhole ein konzentrisches Paar. Wie in der Tandem-Grundanordnung in Fig. 4 ist bei der Dimensionierung des Arrays aus strukturierten Mikrospiegeln und Pinholes auf die richtige Dimensionierung der "Rasterkonstante" — des Abstandes aller Elemente aus strukturierten Mikrospiegeln bzw. der Pinholes im Array untereinander — zu achten. Das optisch dichte Raster des Objektfeldes mit parallelen konfokalen Ringkegel-Bündeln der partiellen Dunkelfeld-Beleuchtung und Abbildung wird in der graphisch dargestellten Version durch eine wiederum "differentielle Scanbewegung" erreicht. Eine andere Variante des Scannens wäre wie in Fig. 4b der Einsatz eines synchronisierten Paares aus drehenden Keilplatten im parallelen Strahlengang des Primärtubus. Zur Erzielung eines kontrastreichen, an Falschlicht armen Arrays aus Leuchtbündeln muß wiederum auf die optische Wirkung der Trägerplatte geachtet werden. Es können die zwischen den Mikrospiegeln befindliche Zonen konsequent geschwärzt oder gut transmittiv ausgelegt sein, um ein Beleuchtungsarray in der Zwischenbildebene mit hohem Kontrast (Bildgüte der Quelle) und geringem Untergrund (Streu- oder Falschlicht der Trägerscheibe) zu erreichen. Die entscheidende Unterdrückung von Falsch- oder Streulicht der Spiegel-Trägerscheibe gelingt natürlich durch die Scheibe mit den konzentrisch zu den strukturierten Mikrospiegeln liegenden Pinholes. Das Einkoppeln von weißen Leuchtquellen in den Hauptstrahlengang erfolgt wie in der Fig. 4 mit Hilfe von optischen Teilern oder Polarisierungsteilern. Auch das Auskoppeln des Abbildungsstrahles aus dem Hauptstrahlengang erfolgt analog der Fig. 4 mit farblich selektiven oder auch neutralen Teiler-elementen. Um die gesamte Anordnung konsequent kontrastreich auszuführen, wird wiederum die zweite Stufe des Abbildungs-

strahlenganges telezentrisch mit einer einzelnen stellbaren Streulichtblende ausgestattet.

Ein Vorteil einiger der vorgeschlagenen Anordnungen ist die konstruktive Möglichkeit der Abtrennung der neuartigen Baugruppen von einem Mikroskop gewöhnlicher Bauart zu einer adaptionsfähigen Zusatzgruppe zur Ergänzung eines vorhandenen Mikroskops. Aus diesem Grund kann auch ein großer Teil des mikroskopischen Zubehörs für die konfokalen Anordnung mit Entladungs- oder Weißlichtquelle eingesetzt werden. Dies betrifft u. a. Beleuchtungsfilter und Schwächungsfilter, Bandfilter für den Beobachtungsstrahlengang sowie Zubehör für die dichroitische Teilung und den Phasenkontrast.

Es ist weiterhin möglich, die parallele konfokale Baugruppe mit anderen mikroskopischen Baugruppen zu verbinden, um sowohl monochromatisch als auch polychromatisch Verfahren wie verschiedene Methoden des Phasenkontrastes (differentiellen, Interphako, positiver und negativer Kontrast) mit den konfokalen Bildern kombinieren zu können.

Aufstellung der verwendeten Bezugszeichen

Verzeichnet sind jeweils die Bezugszeichen bezüglich der ersten Zeichnung, in der sie auftreten, sie wiederholen sich in nachfolgenden Zeichnungen mit gleicher oder ähnlicher Bedeutung.

30 Bezugszeichenliste

Fig. 1

- 1.1 Obere Trägerscheibe
- 1.2 Mikrolinsen
- 1.3 Untere Trägerscheibe
- 1.4 Lochblenden
- 1.5 Drehachse
- 1.6 Laserlichtquelle
- 1.7 Abbildungsobjektiv
- 1.8 Objektebene
- 1.9 Strahlteiler
- 1.10 Abbildungsoptik
- 1.11 Bildebene

45 Fig. 2

- 2.1 Obere Trägerscheibe
- 2.2 Mehrfachbelichtete holografische Elemente
- 2.3 Untere Trägerscheibe
- 2.4 Lochblenden
- 2.5 Drehachse
- 2.6.1, 2.6.2, 2.6.3 Laserlichtquellen
- α, β Einstrahlwinkel zur Senkrechten
- 2.7 Abbildungsobjektiv
- 2.8 Objektebene
- 2.9.1, 2.9.2, 2.9.3 Dichroitische Teiler
- Abbildungsoptik
- Bildebene

Fig. 2a

- 2.12 Mikrolinsen
- 2.13 Weißlichtquelle
- 2.14 Leuchtfeldblende
- 2.15 Kollektorlinse
- 2.16 Aperturblende
- 2.17 Umlenkspiegel
- 2.18 erste Feldlinse
- 2.19 zweite Feldlinse
- 2.20 erste Linsengruppe

2.21 zweite Linsengruppe
2.22 Streulichtblende

Fig. 2b

2.23 Obere Scheibe
2.24 Abbildende Mikroelemente
2.25 Untere Scheibe
2.26 Lochblenden
2.27 Ansteuermittel

Fig. 2c

Fig. 2d

2.251 Erste untere Scheibe mit Lochblenden
2.252 Zweite untere Scheibe mit Lochblenden
2.28 Zustellmittel
2.29 drehbare Keilplatte
2.30 Drehmittel
2.31 Tubuslinse

Fig. 2e

2.32 Erster Laser als Punktlichtquelle
2.33 zweiter Laser als Punktlichtquelle
2.34 Dritter Laser als außerhalb der Zeichenebene liegende Punktlichtquelle
 $\alpha, \delta, \varepsilon$ Einstrahlwinkel zur Senkrechten
2.291 erste Keilplatte
2.292 zweite Keilplatte
2.271 Ansteuermittel
2.30 einfachbelichtete holografische Elemente

Fig. 3

3.1 obere Trägerscheibe
3.2 abbildende Spiegel
3.3 untere Trägerscheibe
3.4 zentralsymmetrische Lochblenden
3.5 Drehachse
3.6 polarisierte Lichtquelle
Pfeilrichtung ist Polarisierungsrichtung
3.7 Polteiler
3.8 Phasenschieber
3.91, 3.92, 3.93, 3.94 Umlenkspiegel
3.93, 3.94 Spiegelflächen F1, F2 der Umlenkspiegel
3.101, 3.102, 3.103 Teilerlemente
3.11 Abbildungsobjektiv
3.12 Objektebene
3.13 Umlenkspiegel
3.14 Abbildungselemente
3.15 Bildebene

Fig. 3a

3.15 Weißlichtquelle
3.17 Leuchtfeldblende
3.18 Kollektorlinse
3.19 Aperturblende
3.20 Strahlteiler
3.21 erste Feldlinse
3.22 zweite Feldlinse
3.23 Tubuslinsen
3.24 Umlenkelement
3.25 erste Linsengruppe
3.26 zweite Linsengruppe
3.28 Streulichtblende
3.29 Chromatisches Zusatzobjektiv

Fig. 3b

3.30 polarisierter Multilinielaser
3.31 Lochblendenspiralen als archimedesche Spiralen

3.32 Einkoppelort der Beleuchtung
3.33 Auskoppelort des Bildes

Fig. 4

5 4.1 Obere Scheibe
4.2 Mikrospiegel
4.3 untere Scheibe
4.4 Lochblenden
4.5 Weißlichtquelle
10 4.6 Leuchtfeldblende
4.7 Kollektor
4.8 Aperturblende
4.9 Kollimator
4.10 Strahlteiler
15 4.11 Phasenschieber
4.12 Tubuslinsen
4.13, 4.14, 4.15 Spiegel
4.151, 4.152, 4.153 Teilerlemente
4.16 Abbildungsobjektiv
20 4.17 Objektebene
4.18 Feldlinse
4.19 Spiegel
4.20 erste Linsengruppe
4.21 Streulichtblende
25 4.23 zweite Linsengruppe
4.24 Bildebene
4.25 Ansteuereinheit

Fig. 4a

30 4.26, 4.27, 4.28 Laserlichtquellen
4.29 Diffraktives Element, hier ein Dispersionsgitter

Fig. 4b

4.30 polarisierter Multilinielaser
35 4.301 zweiter Laser
4.33 Dichroitischer Mischerspiegel

Fig. 4c

4.31 Zweite Scheibe
40 4.32 Zustellmittel
4.34 erste und zweite drehbare Keilplatte im parallelen Strahlengang
4.35 Ansteuermittel

Fig. 4d

45 4.36, 4.37 erste und zweite drehbare parallele Ablenkplatte im divergenten Strahlengang
4.38 Ansteuermittel zur Drehung und gleichzeitigen Verkipfung in Richtung der optischen Achse

50

Fig. 4e

4.39, 4.40 Abbildende Spiegelemente als hohl Lichtkegel erzeugende Mikroringspiegel, wie vergrößert dargestellt, zur Dunkelfeldbeleuchtung

55

Fig. 4f

4.41 erster kollimierter Laser
4.42 zweiter kollimierter Laser
4.43 Blendenarray
60 4.44 Mikrolinsenarray
4.45 Trägerscheibe mit Fotolack
4.46, 4.47 Teilerspiegel
4.48, 4.49, 4.50, 4.51, 4.52, 4.53 Umlenkspiegel

65

Patentansprüche

1. Anordnung zur konfokalen Mikroskopie, mit einer ersten Trägerscheibe und einer zweiten, ein

- Lochblendenraster aufweisenden Trägerscheibe, wobei die erste Trägerscheibe zur Übertragung des Lichtes mindestens einer Lichtquelle in Richtung der zweiten Trägerscheibe und eines beleuchteten Objektes rasterförmig angeordnete Mikrolinsen oder Transmissionshologramme aufweist. 5
2. Anordnung zur konfokalen Mikroskopie, mit einer ersten Trägerscheibe und einer zweiten, ein Lochblendenraster aufweisenden Trägerscheibe, wobei die erste Trägerscheibe zur Übertragung des Lichtes mindestens einer Lichtquelle in Richtung der zweiten Trägerscheibe und eines beleuchteten Objektes rasterförmig angeordnete reflektierende Elemente wie abbildende Mikrospiegel oder Reflexionshologramme aufweist. 10 15
3. Anordnung nach Anspruch 2, wobei bei einer Anordnung mit einer ersten Trägerscheibe mit rasterförmig angeordneten reflektierenden Elementen das Licht mindestens einer Lichtquelle über einen zwischen erster und zweiter Trägerscheibe angeordneten Strahlteiler so eingeblendet wird, daß es senkrecht auf die reflektierenden Elemente auftrifft. 20
4. Anordnung nach Anspruch 3, wobei der Strahlteiler ein Polteiler ist und polarisiertes Licht eingestrahlt wird. 25
5. Anordnung nach Anspruch 4, wobei im Beleuchtungsstrahlengang ein Phasenschieber vorgesehen ist.
6. Anordnung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei auf der ersten Trägerscheibe einfach belichtete Hologramme vorgesehen sind. 30
7. Anordnung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei auf der ersten Trägerscheibe mehrfach belichtete Hologramme vorgesehen sind. 35
8. Anordnung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die Mikrolinsen oder Spiegel diffraktive optische Elemente sind.
9. Anordnung nach einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die erste und zweite Trägerscheibe um eine gemeinsame Drehachse rotierend ausgebildet sind. 40
10. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die erste und zweite Trägerscheibe zueinander über Ansteuermittel verschiebbar sind. 45
11. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei der zweiten Trägerscheibe eine weitere, Lochblenden aufweisende dritte Trägerscheibe zugeordnet ist, die zur Zustellung der Lochblenden gegen die zweite Trägerscheibe verschiebbar ist. 50
12. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei zur Erzeugung einer Scanbewegung im Beleuchtungsstrahlengang zwischen der zweiten Trägerscheibe und dem Objekt mindestens eine dreh- und/oder verschiebbare Keilplatte oder Planplatte angeordnet ist. 55
13. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei über einen dichroitischen Mischerspiegel mehrere Laser in den Beleuchtungsstrahlengang eingekoppelt werden. 60
14. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei Einkoppelort des Beleuchtungslichtes auf der zweiten Trägerscheibe und Einkoppelort der vom Objekt kommenden Strahlung nicht übereinstimmen. 65
15. Anordnung nach mindestens einem der voran-

gegangenen Ansprüche, wobei zwischen der zweiten Trägerscheibe und dem Objekt mehrere Umlenkspiegel vorgesehen sind.

16. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei auf der zweiten Trägerscheibe Lochblenden spiralen und auf der ersten Trägerscheibe korrespondierende Spiralen von reflektierenden Elementen vorgesehen sind, beide um eine gemeinsame Drehachse drehbar sind und das Beleuchtungslicht und das vom Objekt kommende Licht an unterschiedlichen Orten auf die zweite Trägerscheibe gelangen.
17. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei der Einkoppelort der Beleuchtung und der Einkoppelort der vom Objekt kommenden Strahlung mit der Drehachse einen Winkel ungleich 180 Grad einschließen.
18. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei archimedesche Spiralen vorgesehen sind, deren Anzahl sich als Quotient von 360 Grad durch den Winkel, den die Trägerscheiben mit der Drehachse einschließt, ergibt.
19. Anordnung nach Anspruch 18, wobei bei einem Winkel von 90 Grad vier Spiralen vorgesehen sind.
20. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei nacheinander oder gleichzeitig mehrere Lichtquellen verschiedener Wellenlängen eingestrahlt werden.
21. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei mehrere, zueinander einen Winkel einschließende Lichtquellen verschiedener Wellenlängen eingestrahlt werden.
22. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die Einkopplung mehrerer Lichtquellen verschiedener Wellenlängen in den Beleuchtungsstrahlengang über ein diffraktives Element, vorzugsweise ein Dispersionsgitter erfolgt.
23. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die Einstrahlung der Lichtquelle durch eine Köhlersche Beleuchtung erfolgt.
24. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei eine Weißlichtquelle vorgesehen ist.
25. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei zwischen den Trägerscheiben mindestens ein reflektierendes Element zur Ausblendung der von einem über die erste und zweite Trägerscheibe beleuchteten Objekt kommenden Strahlung in Richtung einer Bildebene vorgesehen ist.
26. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei mehrere auswechselbare Strahlteiler vorgesehen sind.
27. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei mindestens ein dichroitischer Strahlteiler vorgesehen ist.
28. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei in Richtung der Bildebene ein telezentrischer Strahlengang vorgesehen ist, der mindestens eine Streulichtblende beinhaltet.
29. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die reflektierenden Elemente der ersten Trägerscheibe randverspiegelte Mikrospiegel sind und durch Lichtkegel eine Art Dunkelfeldbeleuchtung erzeugen.

30. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei im Strahlengang zwischen der zweiten Trägerscheibe und dem Objekt ein Objektiv mit definiertem chromatischen Längsfehler vorgesehen ist. 5
31. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die vielfache, räumlich parallele und zeitgleiche Abbildung mindestens einer Punktlichtquelle in die Objektebene eines optischen Vergrößerungsgerätes durch eine Vielzahl 10 ineinander geschriebener sowie für eine parallel konfokale Beleuchtung sinnvoll zueinander gelegene und gleichzeitig auslesbare Vielzahl von Mikrohologrammen realisiert wird.
32. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die vielfache, räumlich parallele und zeitgleiche Abbildung der Punktlichtquelle in die Objektebene eines optischen Vergrößerungsgerätes mittels eines einfarbig belichteten Mikrohologrammes erfolgt wobei die Reproduktion des Hologrammes zu einer Vielzahl von funktionsbestimmt leuchtenden Signalwellen führt, die durch Referenzbündel verschiedener Laser-Arbeitswellenlängen und geeigneter Konvergenz angeregt werden. 20
33. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die Mikrohologramme entweder als Reflexions- oder als Transmissionshologramme mit hoher Beugungseffektivität benutzt werden aber auch eine gemischtes Rekonstruieren der vielfachen Signalwelle möglich ist. 25
- Anordnung zur parallel konfokalen Beleuchtung gemäß Ansprüchen 5 und 6 wobei die Hologramme vorrangig als Phasenhologramme ausgelegt sind aber auch Amplitudenhologramme sein können wobei sie entweder synthetisch oder auch experimentell erzeugt werden können. 30
34. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei verschiedenartige konventionelle Beleuchtungslichtquellen austauschweise benutzt werden können und die Vielzahl der Teilbündel der Beleuchtung mit Hilfe von Baugruppen einer modifizierten Köhlerschen Beleuchtung im Zusammenwirken mit einer Vielzahl mikrooptischer Elemente gleichzeitig räumlich gebildet werden. 35
35. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche wobei die vielfache räumlich parallele und zeitgleiche Abbildung der Lichtquelle in die Objektebene eines optischen Vergrößerungsgerätes durch eine Vielzahl sphärischer oder asphärischer Mikrospiegel geeigneter Brennweite und Durchmesser mit einem für eine parallel konfokale Beleuchtung sinnvollen Abstand zueinander realisiert wird. 40
- Anordnung zur parallel konfokalen Beleuchtung gemäß Anspruch 7 und 10 bei der zur Erzielung eines guten Beleuchtungskontrastes und zur Minimierung von Falsch- oder Streulicht die Zonen zwischen den abbildenden Bereichen der mikrooptischen Elemente geeignet geschwärzt sind, aus Licht absorbierenden Material bestehen oder transmissiv ausgelegt sind. 45
36. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche wobei die Trägerscheibe mit den abbildenden mikrooptischen Elementen entweder eine oder eine Vielzahl, auch paarweise mögliche zentralsymmetrische Anordnung Archi- 50

medischer Spiralen aufweist, auf der die mikrooptischen Elemente angeordnet sind, oder achssymmetrische Strukturen in Form eines quadratischen, rechteckigen, rhombischen oder hexagonalen Arrays aus mikrooptischen Bauelementen, wobei ein hoher Bedeckungsgrad mit abbildenden Flächenanteilen erreicht werden soll.

Anordnung zur parallel konfokalen Beleuchtung gemäß Ansprüchen 1, 5, 6, 10 und 12, bei der die Trägerscheiben für eine Doppelscheibenanordnung konzentrisch zu den aufgebrachtten Strukturen verbunden sind.

37. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei das parallele Scannen der Objektebene entweder durch motorisches Drehen der Nipkow-Doppelscheibenanordnung erfolgt oder durch ein motorisiertes Verschieben einer Array-Doppelscheibenanordnung um den Betrag des Abstandes der optischen Mikroelemente in 2 orthogonalen Richtungen senkrecht zur optischen Achse der Beleuchtung.

38. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei das gleichzeitige Scannen von achssymmetrischen Leuchtstrukturen in der Objektebene durch motorisches Drehen eines Keiles, Doppelkeiles oder eines in konjugierten Lagen befindlichen synchronisierten Keilpaares im Parallelstrahlengang von Tandemanordnungen erfolgt oder durch Drehen und Kippen einer Planplatte oder eines in konjugierten Lagen befindlichen synchronisierten Planplattenpaares im konvergenten Strahlengang von Tandemanordnungen um den Betrag des Abstandes der optischen Mikroelemente in Richtungen senkrecht zur optischen Achse der Beleuchtung.

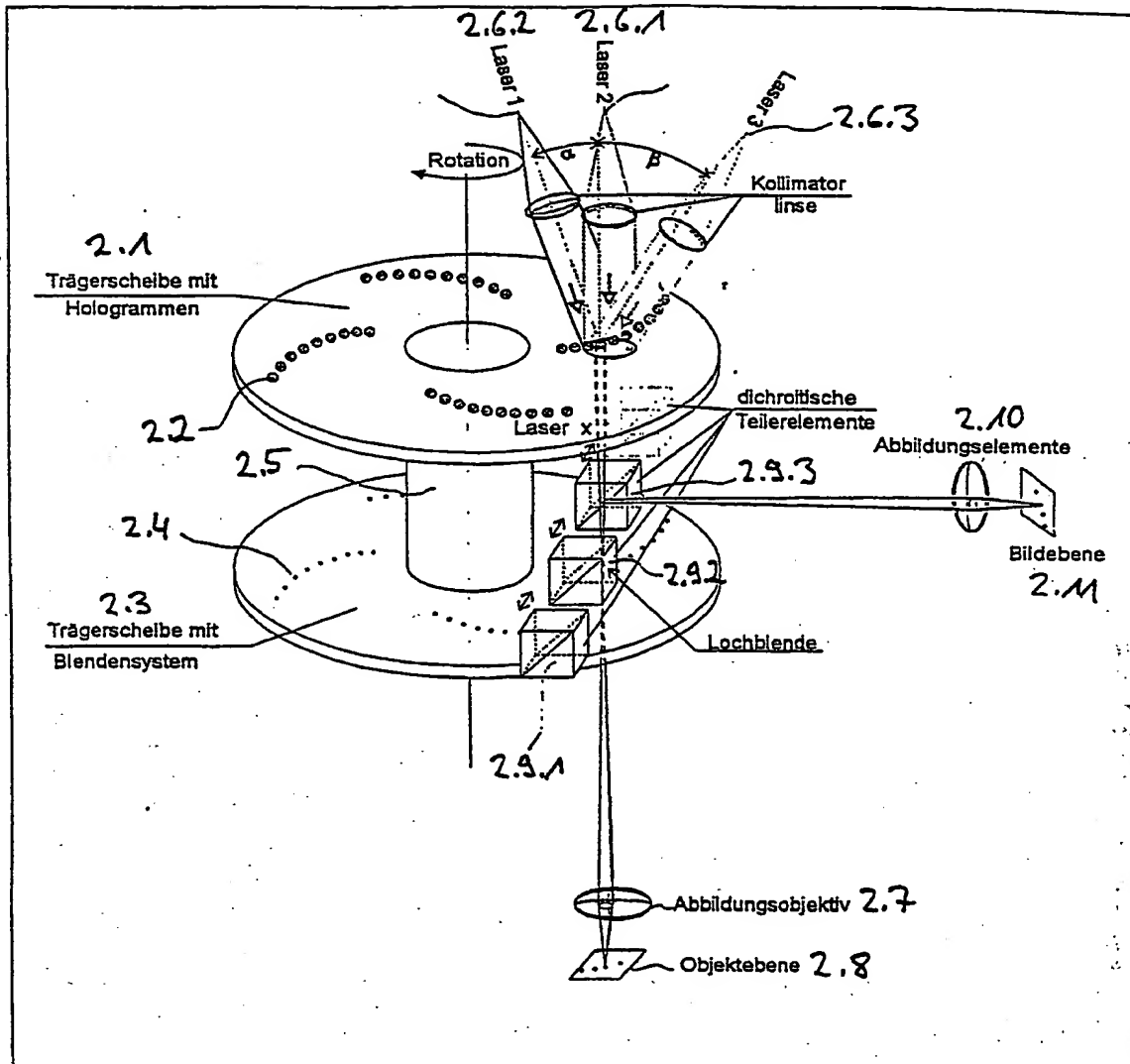
39. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die Array-[Doppelscheibenanordnung mit dem achssymmetrischen Array(s) nur die Fläche des Feldes eines Zwischenbildes unwesentlich übertrifft und nicht ein Vielfaches der Fläche davon haben muß.

Anordnung zur effektiv beleuchteten parallel konfokalen Abbildung gemäß Anspruch 1, bei der die konfokale Wirkung im Abbildungszweig durch die zweifache Nutzung des Blendensystems im Leuchtfeldbereich bzw. in einer Tandemeinrichtung im Feld der Objekt-Zwischenabbildung erreicht wird.

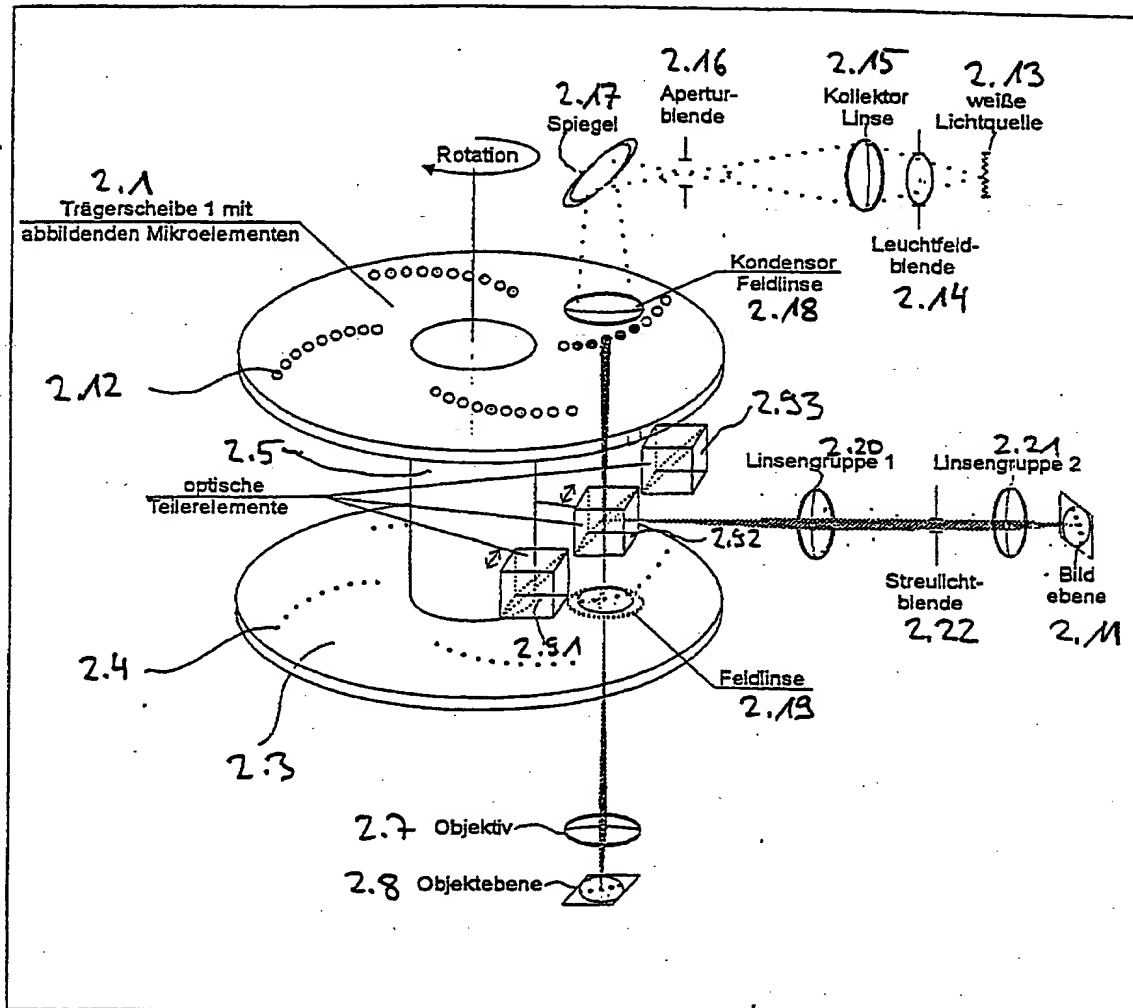
40. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, wobei die Abbildung des Beobachtungsobjektes sowohl mit dem Auge als auch mit einer optischen Anpassung durch einen flächigen Empfänger stattfinden kann.

41. Anordnung nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche wobei durch sukzessives Verschieben des Objektes gegenüber dem abbildenden System schnell und prozeßnah eine Information über die räumliche Struktur des Objektes gewonnen wird und durch elektronische Mittel zur Bildspeicherung verarbeitet werden kann.

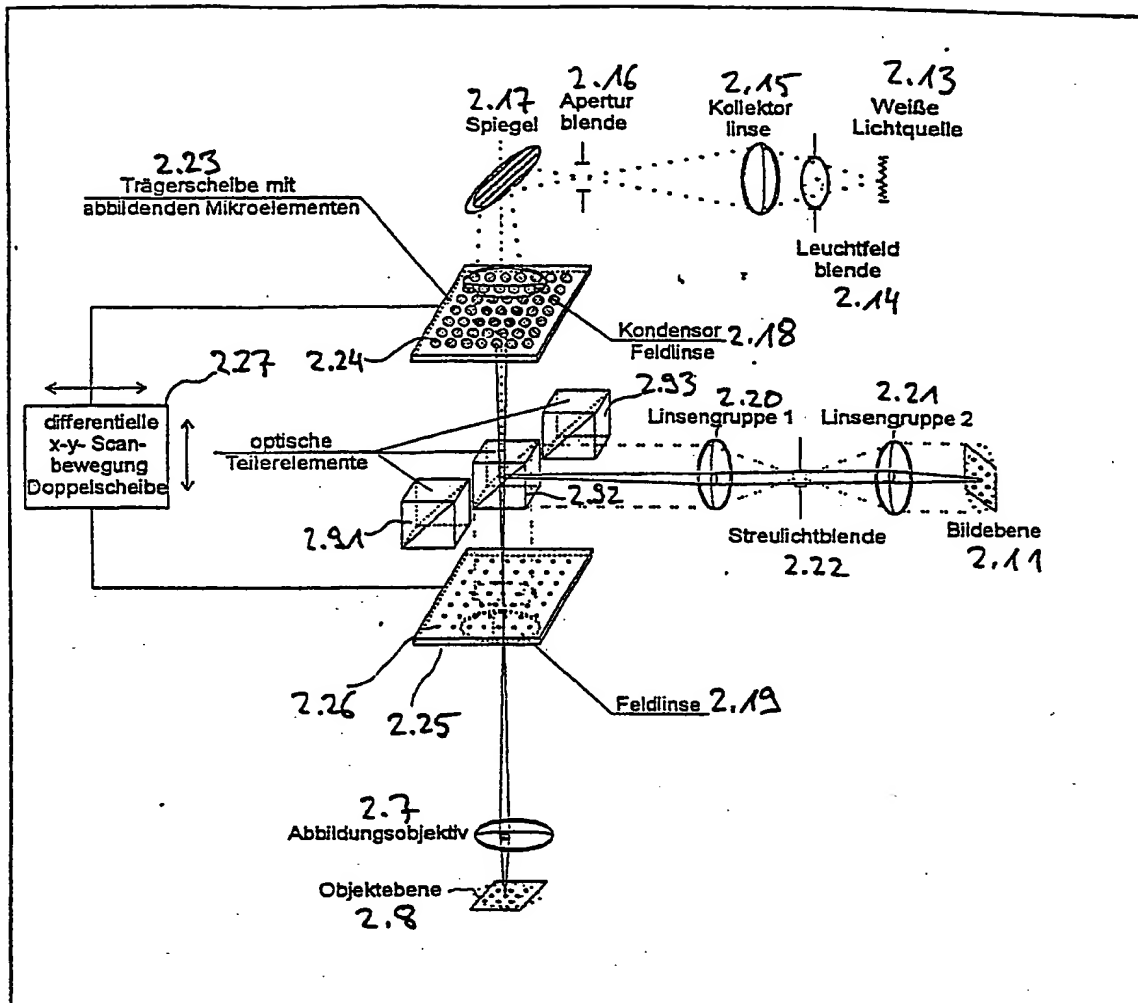
Hierzu 17 Seite(n) Zeichnungen



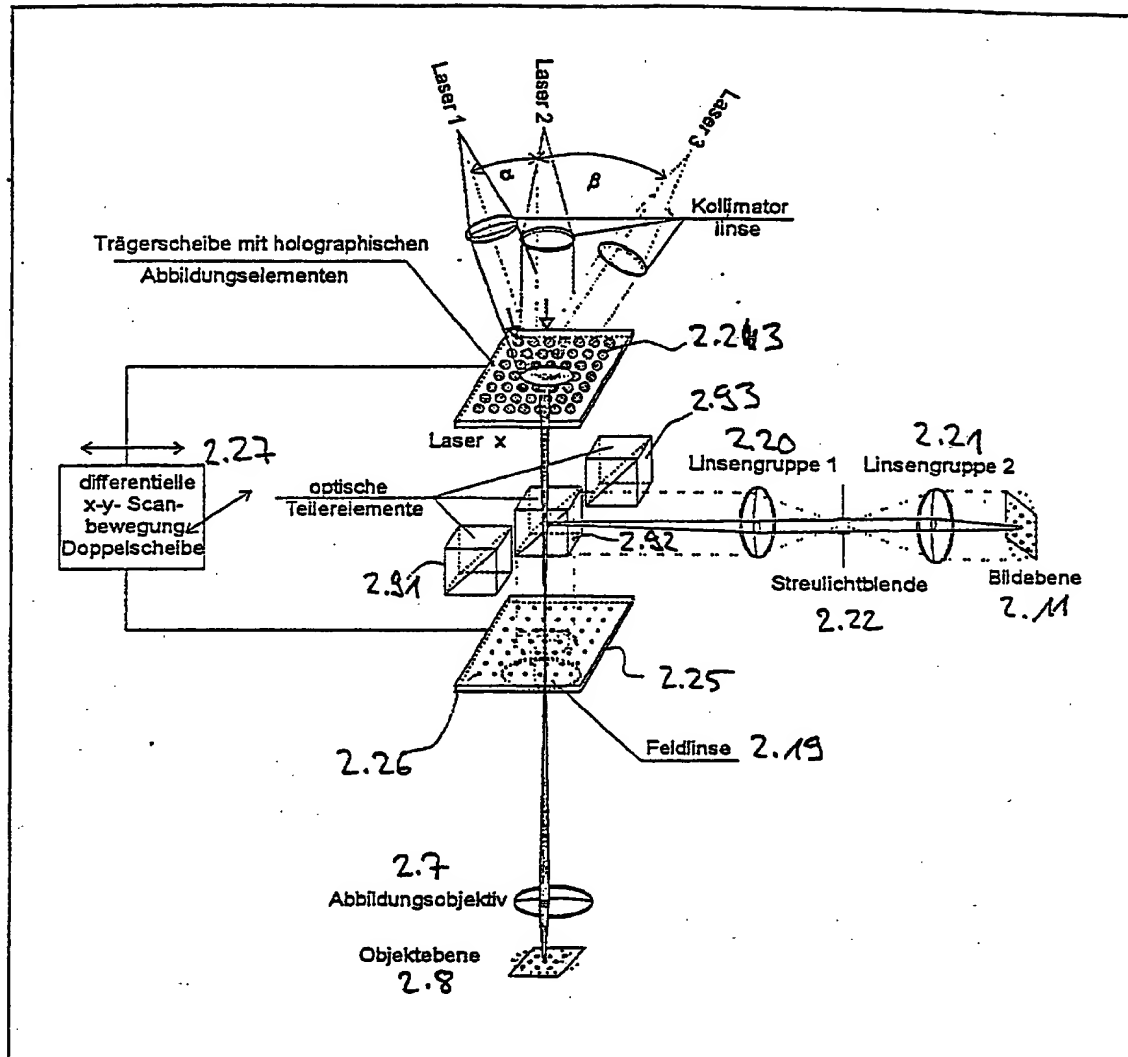
Figur 2: konfokale Anordnung mit Nipkow- Doppelscheibe und holographischen, den Beleuchtungswellenlängen angepaßten Abbildungselementen



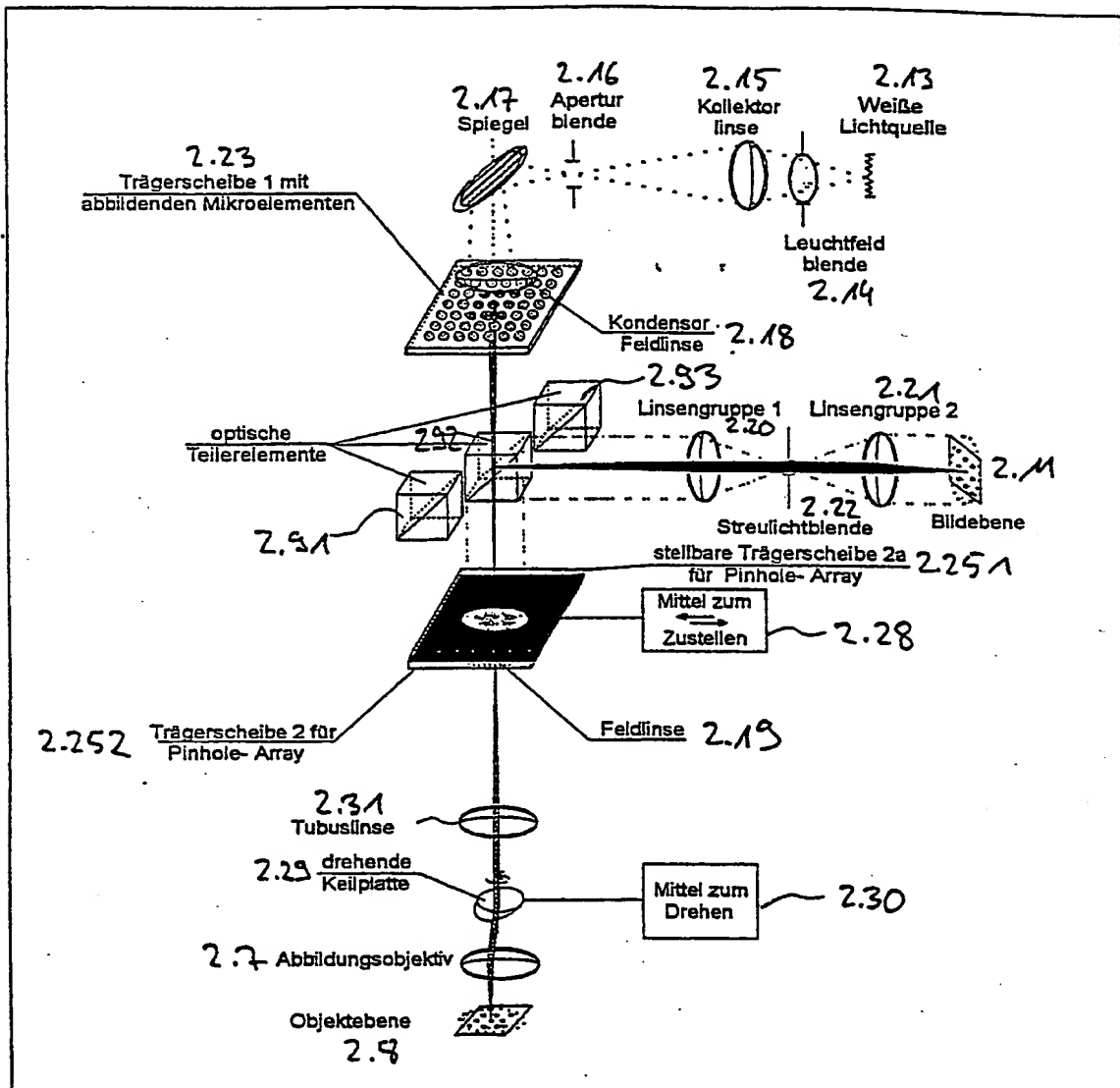
Figur 2a: Anordnung für eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung mit Nipkow- Doppelscheibe und abbildenden Mikroelementen sowie Streulichtblende



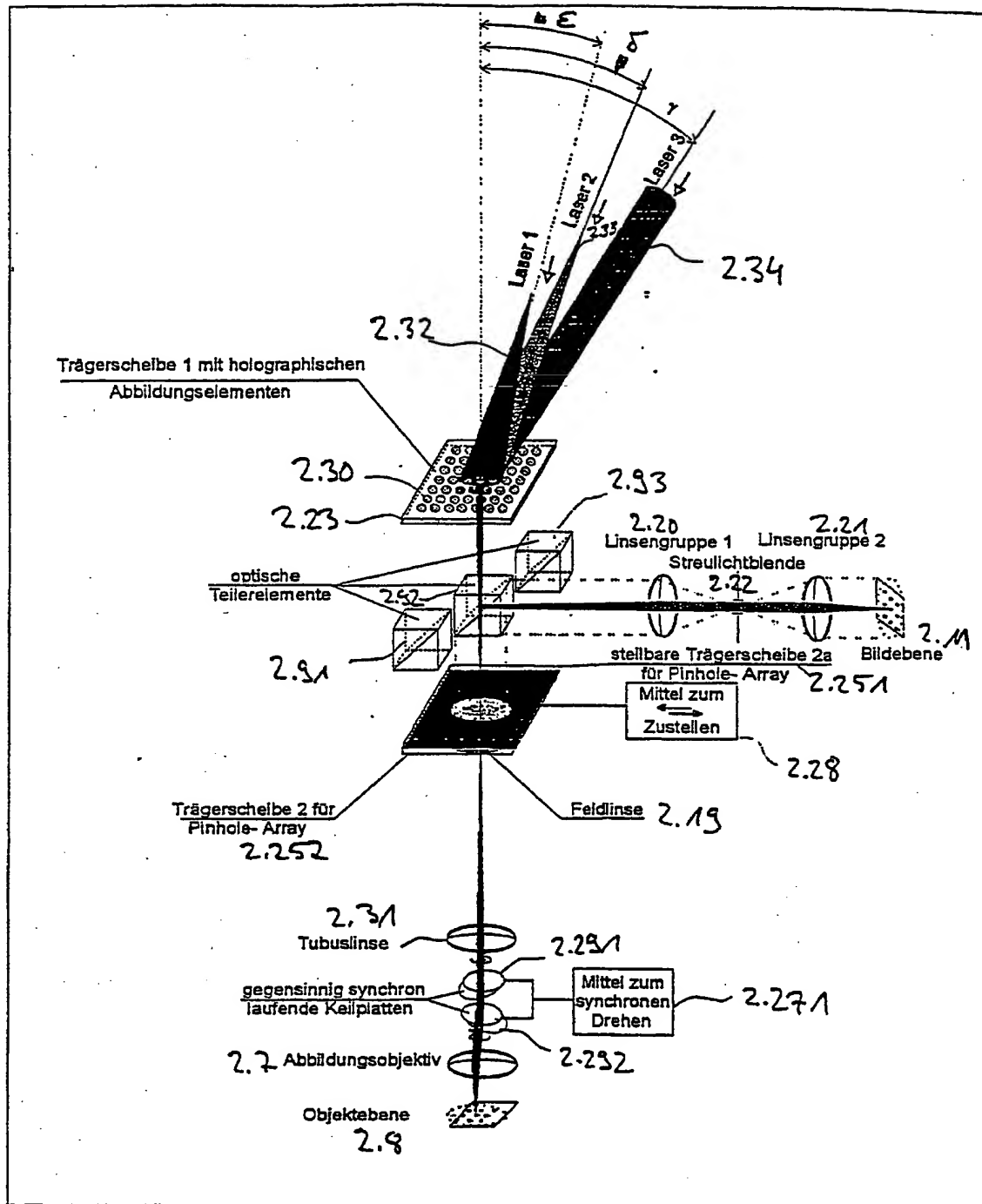
Figur 2b: Anordnung für eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung mit $\Delta x \Delta y$ scannender Doppelscheibe und abbildenden Mikroelementen sowie Streulichtblende



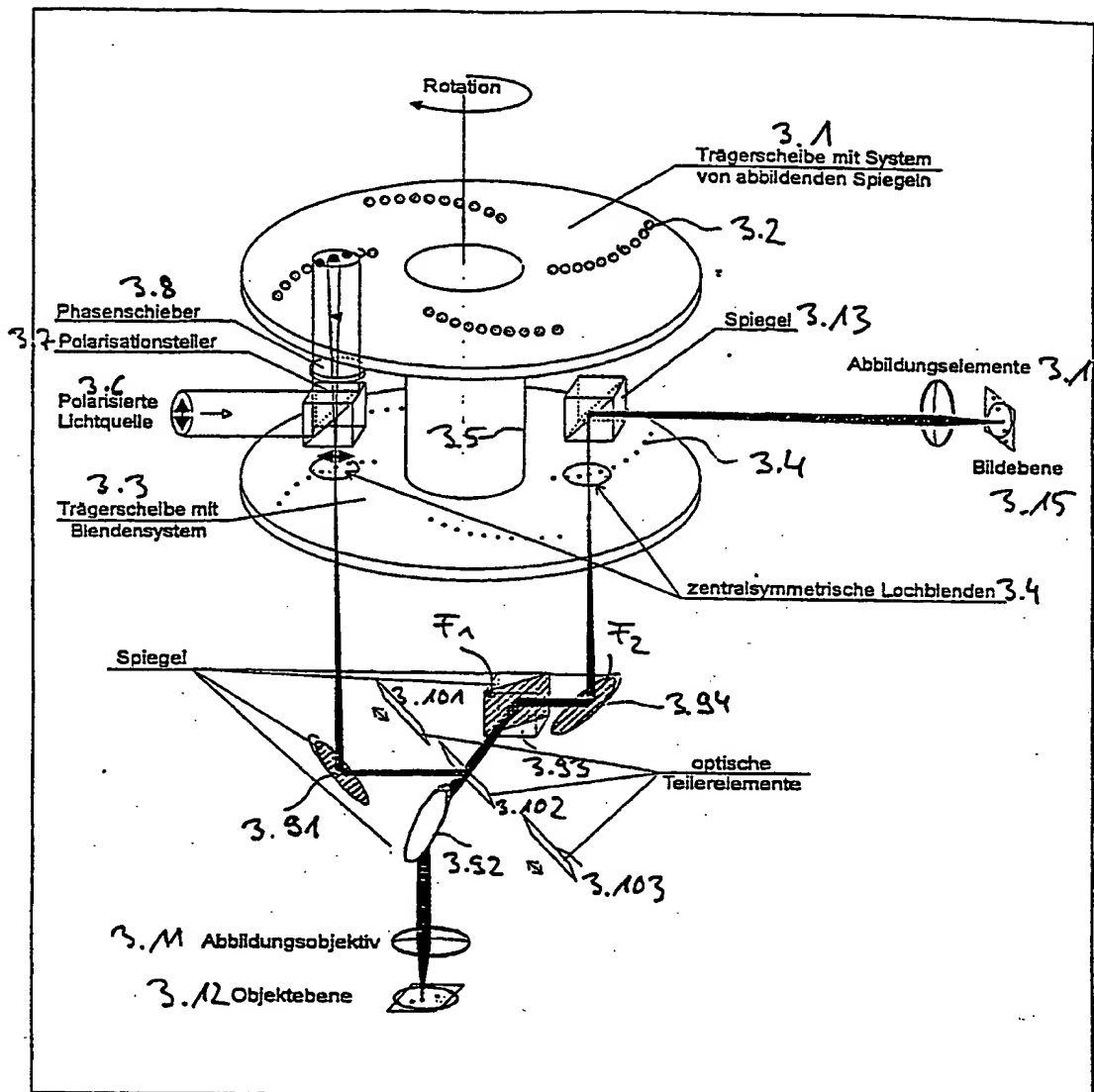
Figur 2c: Anordnung für eine Beleuchtung mit mehreren Laserquellen mit $\Delta x \Delta y$ scannender Doppelscheibe und holographischen Abbildungselementen sowie Streulichtblende

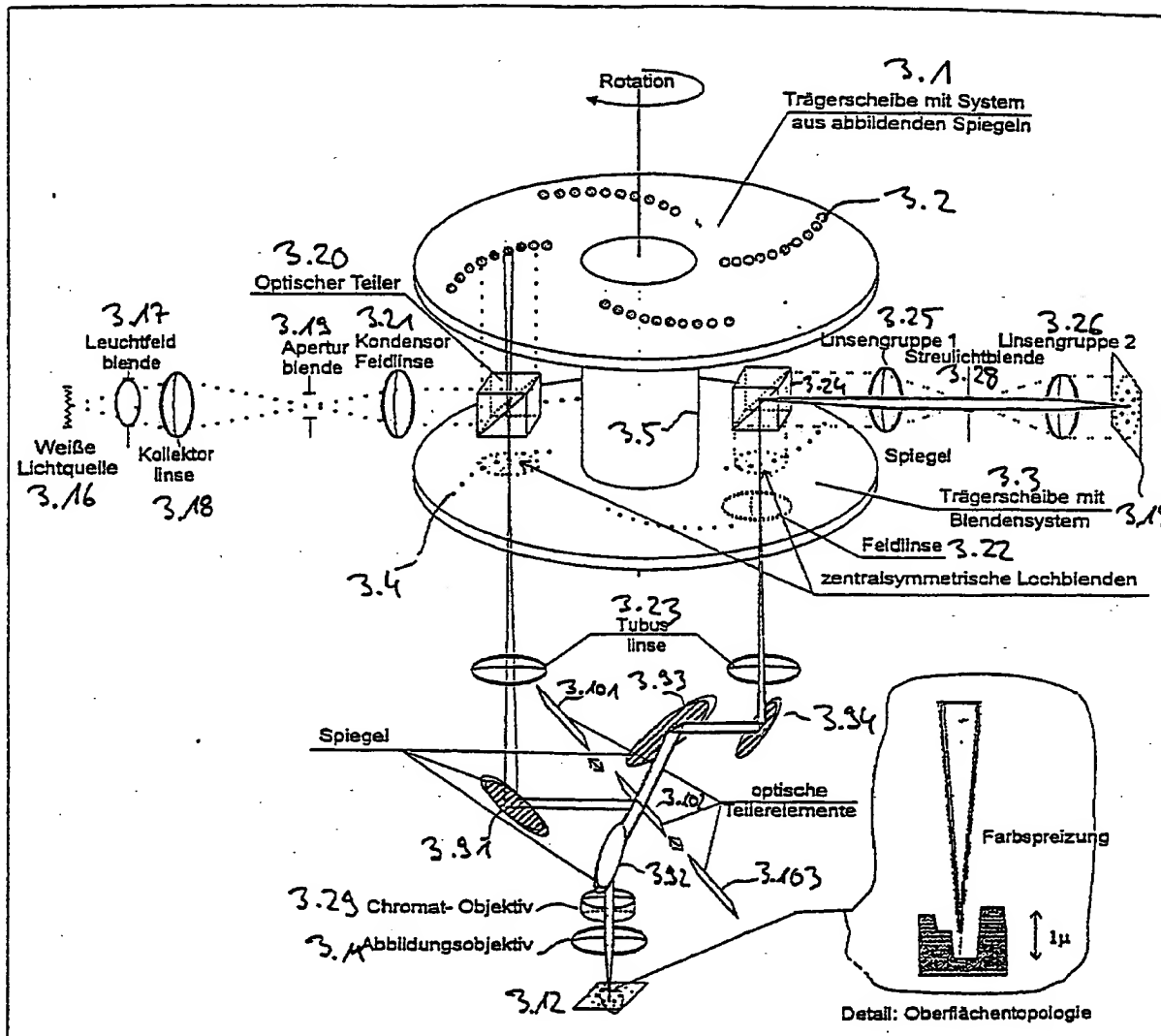


Figur 2d: Anordnung für eine modifizierte Köhlersche Beleuchtung mit stehender Doppelscheibe, stellbaren Blendenelementen und drehender Keilplatte sowie Streulichtblende

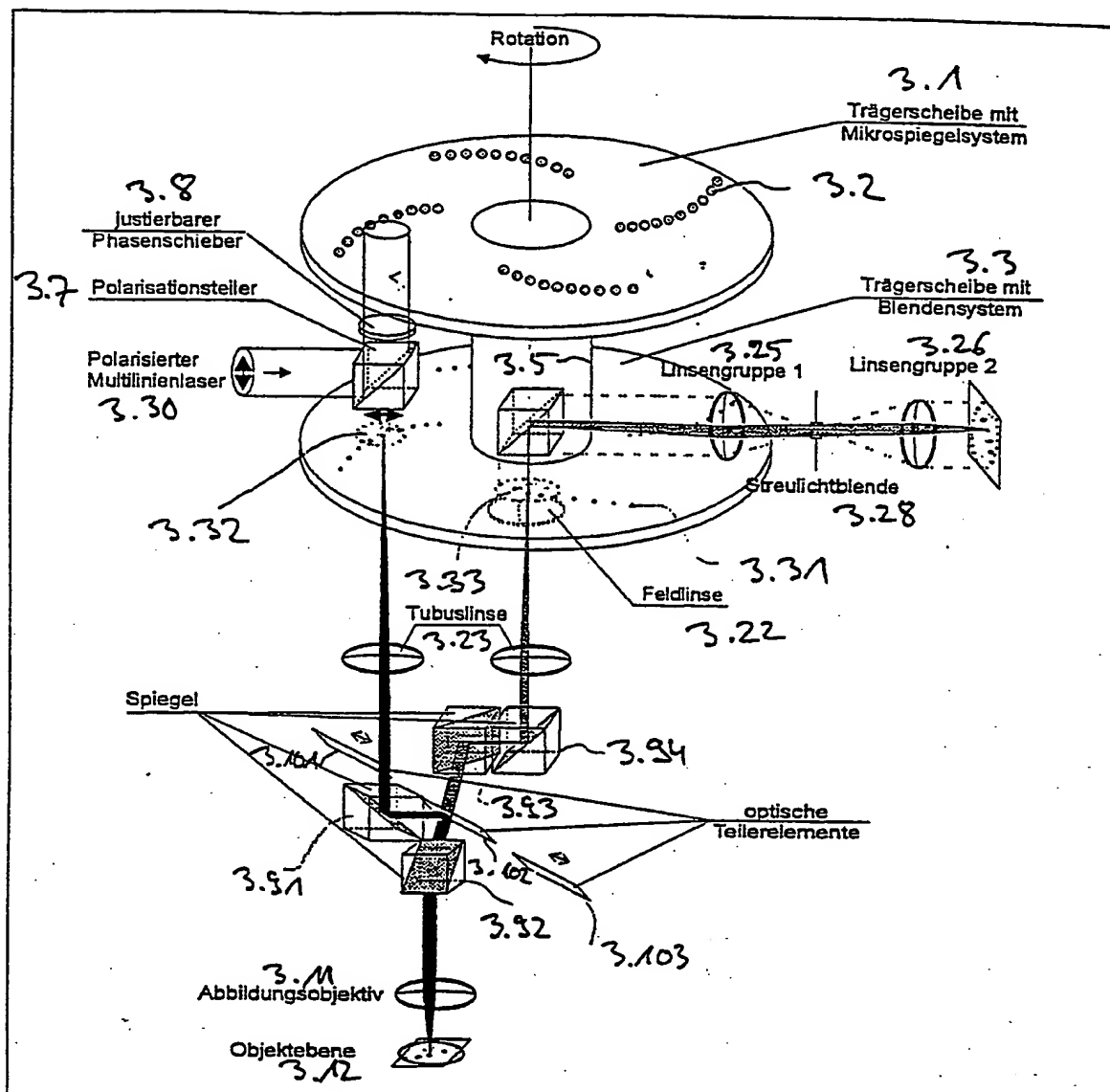


Figur 2e: konfokale stationäre Doppelscheiben- Anordnung mit stellbaren Pinholedurchmessern und zwei gegensinnig synchronisiert drehenden Keilplatten sowie holographischen Abbildungselementen

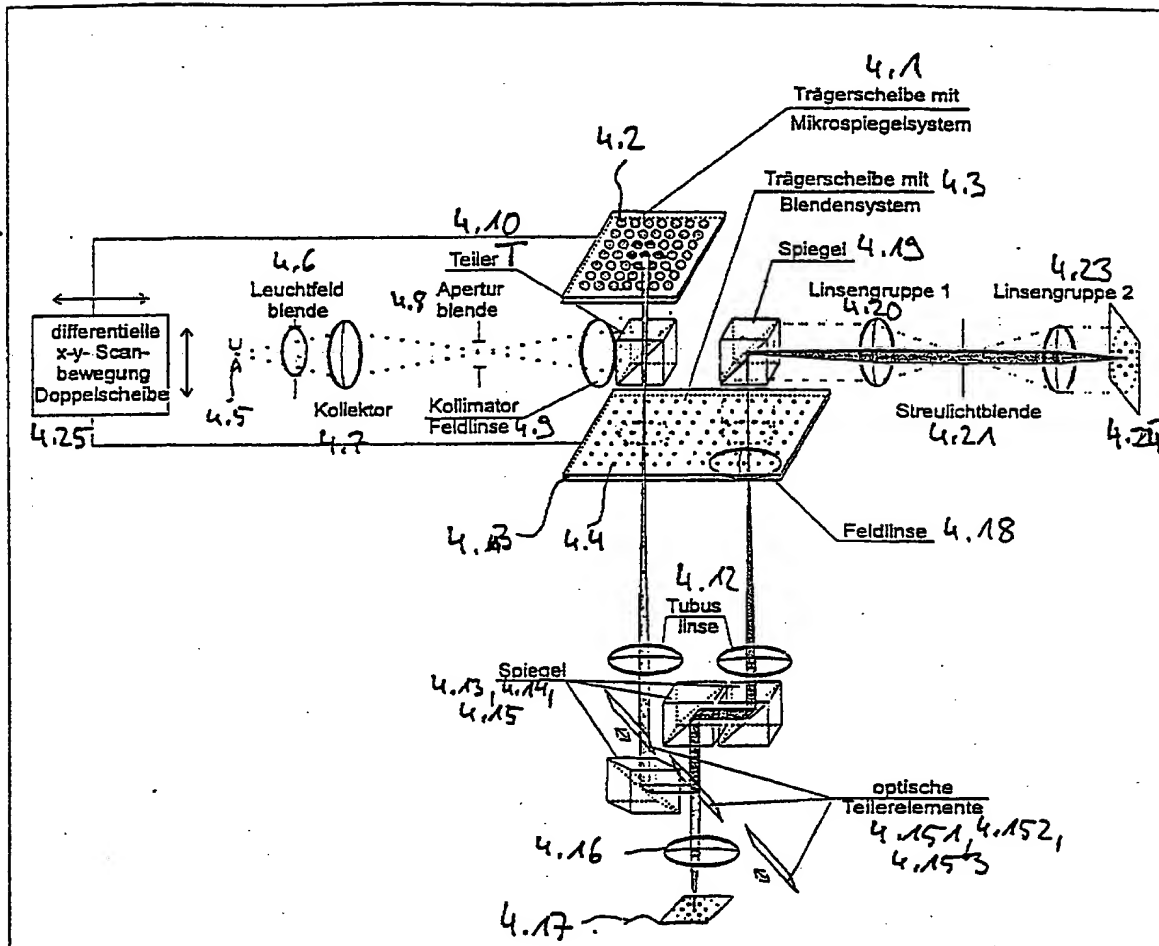




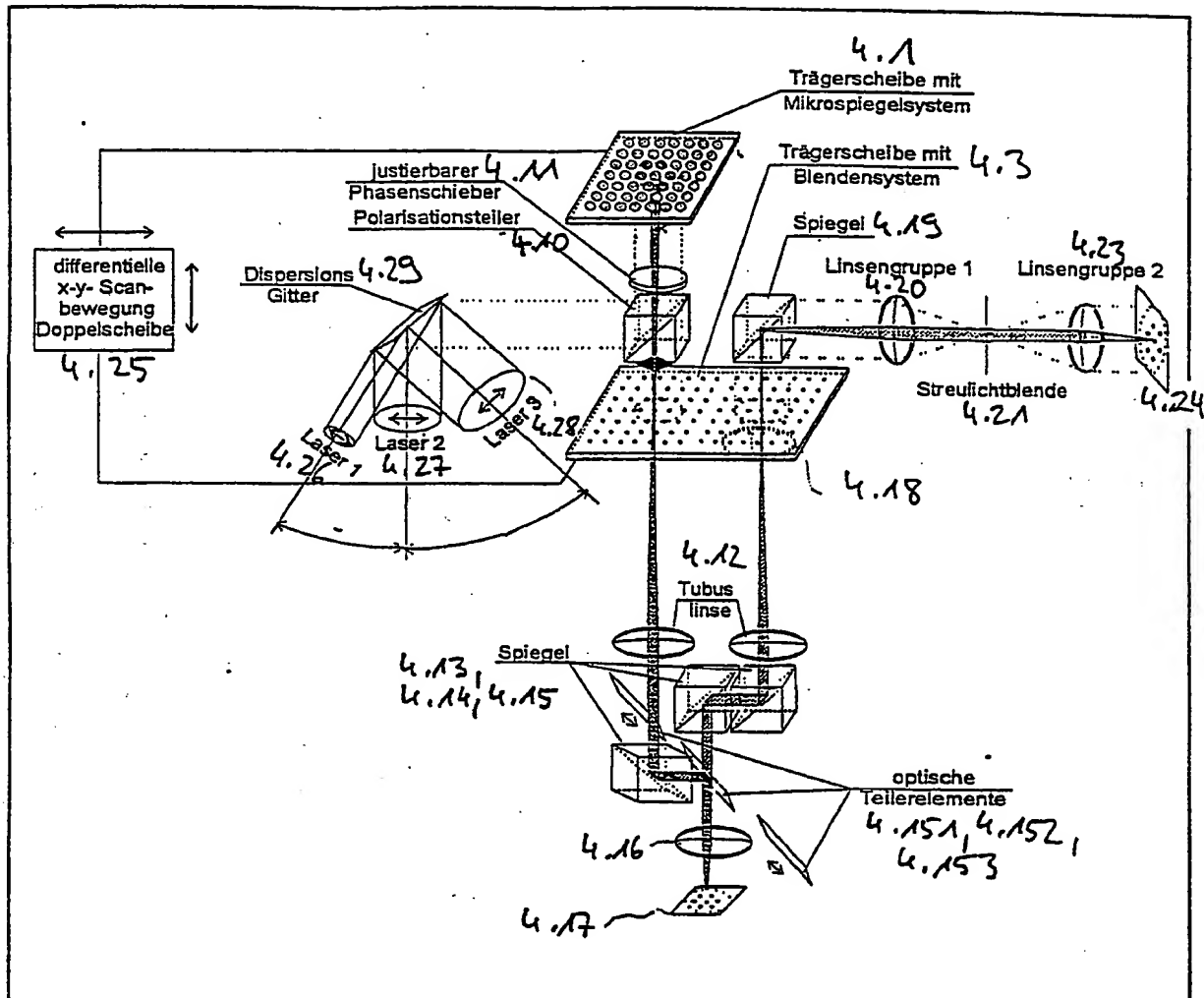
Figur 3a: konfokale Tandem- Anordnung mit Nipkow- Doppelscheibe mit Mikrospeiegeln und zugehörigen Blenden sowie modifizierte Köhlersche Beleuchtung und Einsatz von Chromat- Objektiven



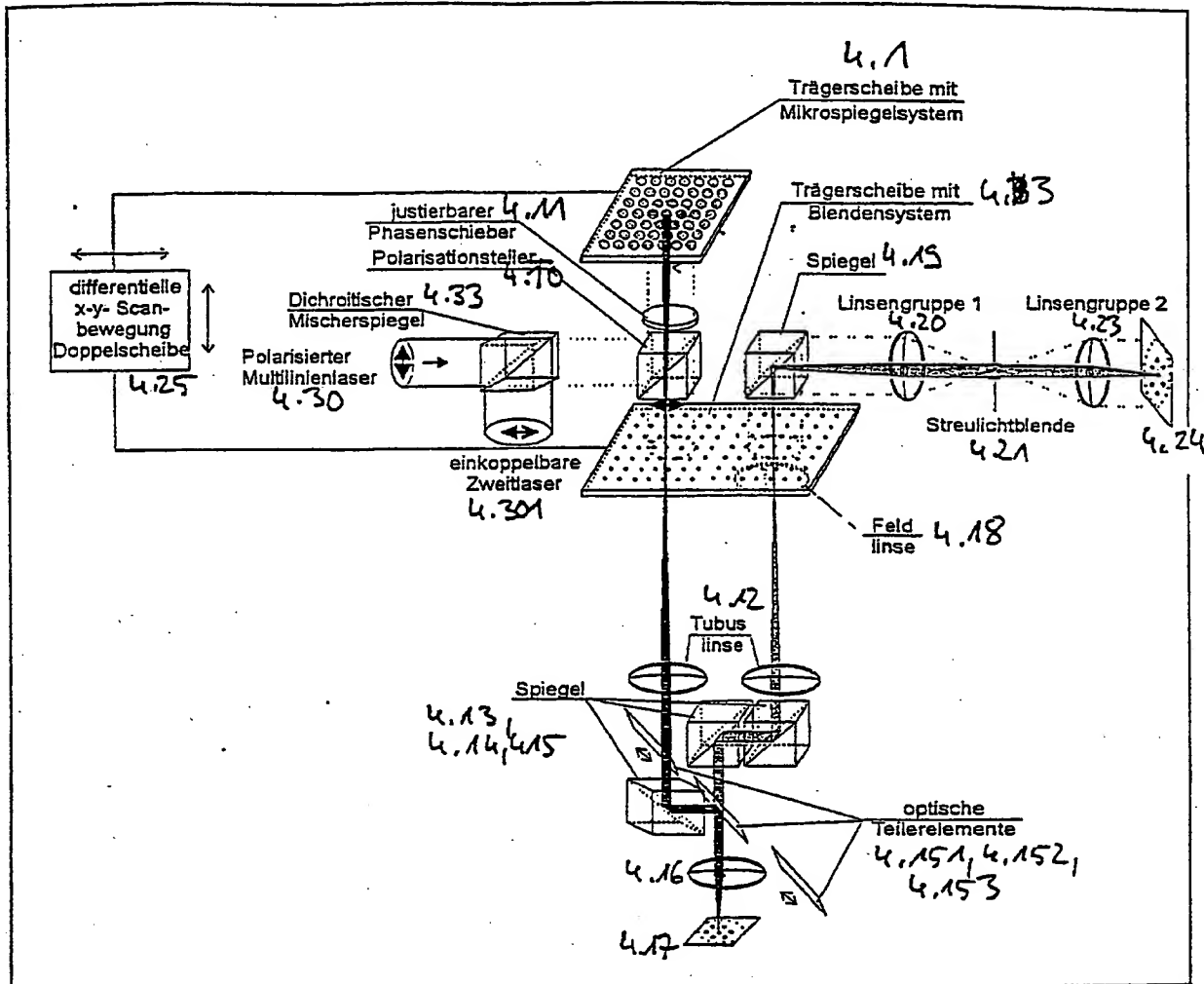
Figur 3b: konfokale, modifizierte Tandem-Anordnung mit Nipkow- Doppelscheibe und System aus Paaren von abbildenden Spiegeln und Blenden für Beleuchtung durch Laser mit Mehrfachlinien



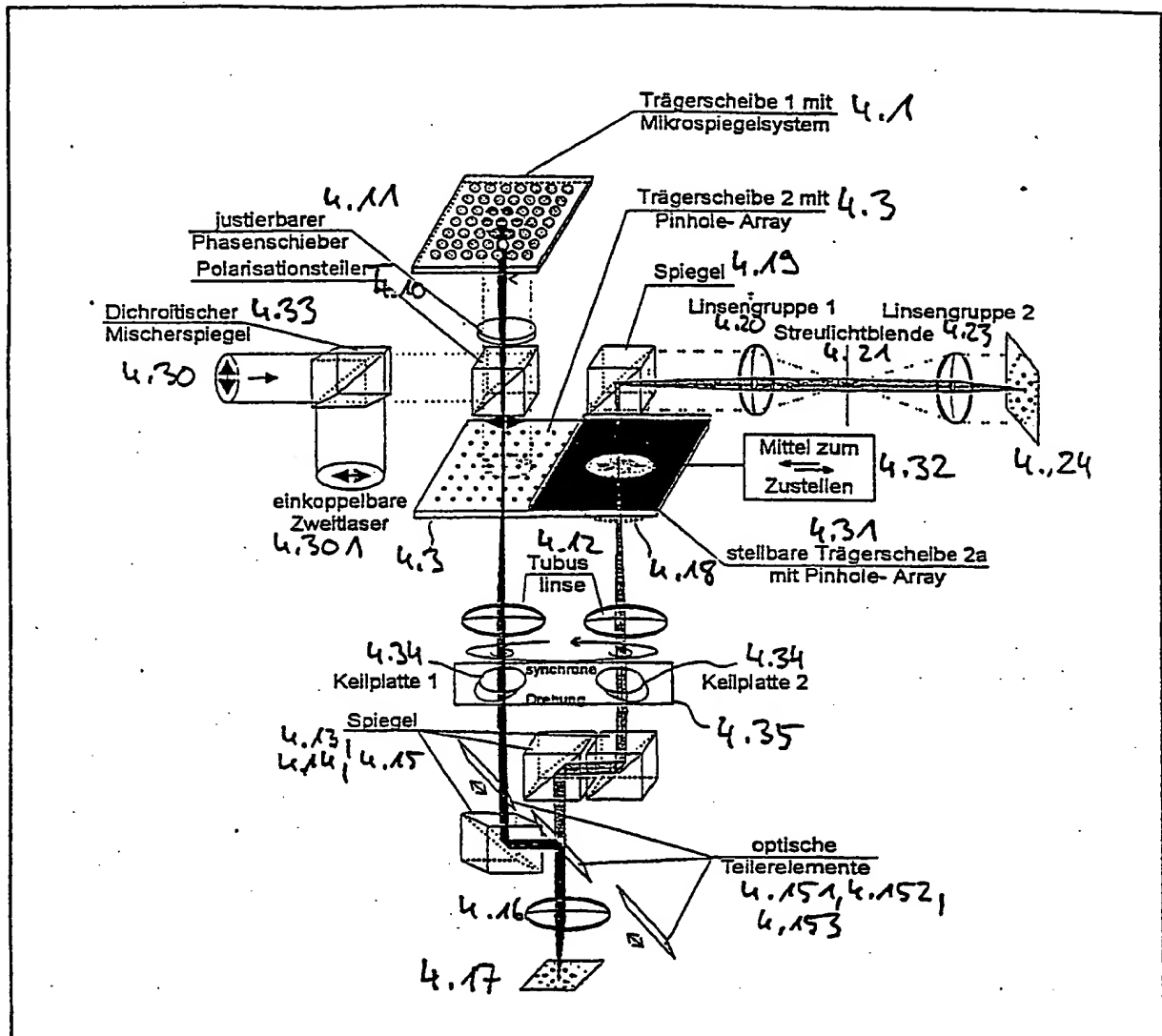
Figur 4: konfokale, modifizierte Tandem-Anordnung mit $\Delta x \Delta y$ scannender Doppelscheibe und angepaßter Köhlerscher Beleuchtung für konventionelle Linien- oder Bandenlichtquellen



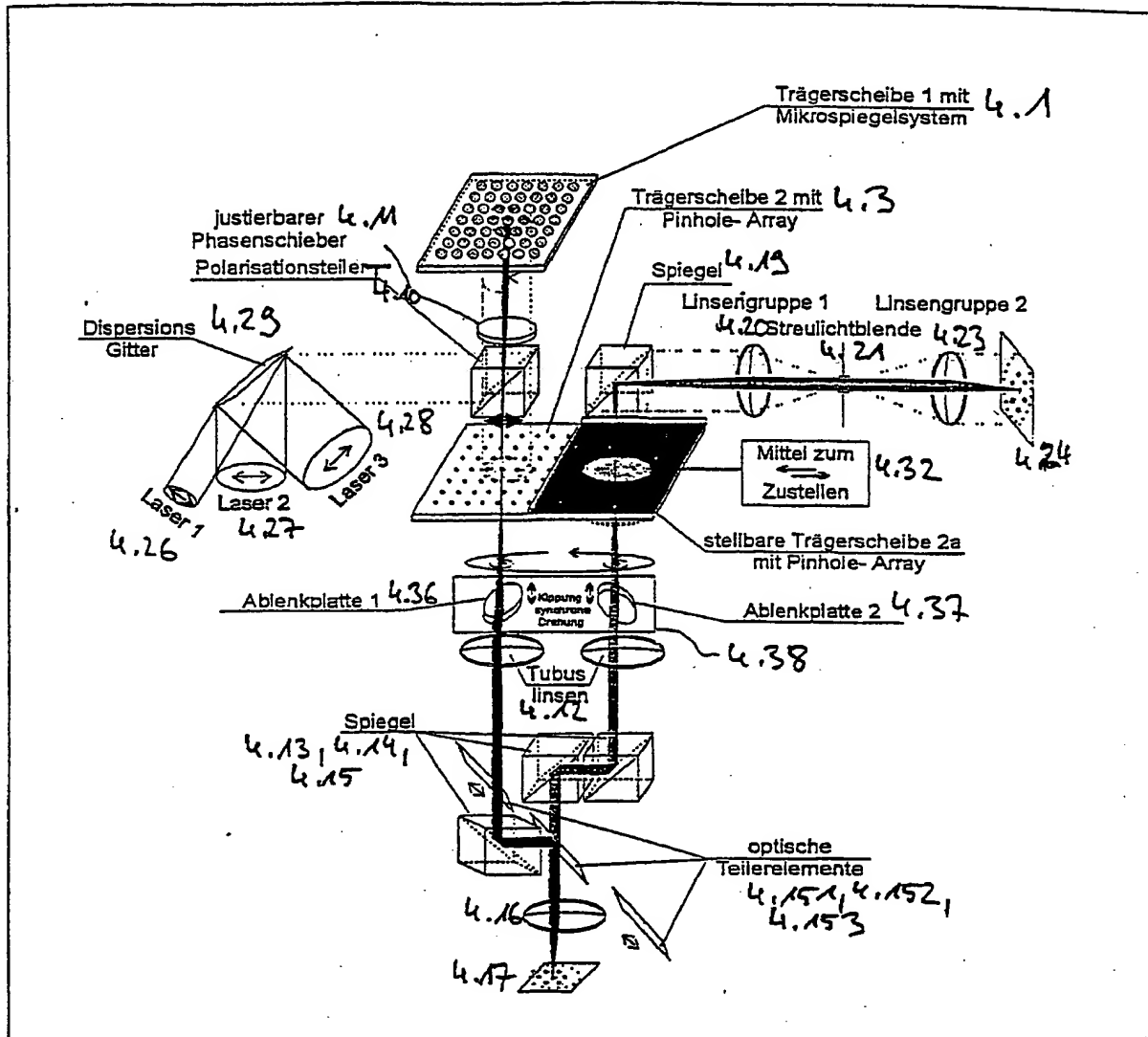
Figur 4a: konfokale, modifizierte Tandem- Anordnung mit $\Delta x \Delta y$ scannender Doppelscheibe aus periodischen Paaren von Mikrospiegeln und Blenden sowie diffraktiver Einkopplung mehrerer Laser



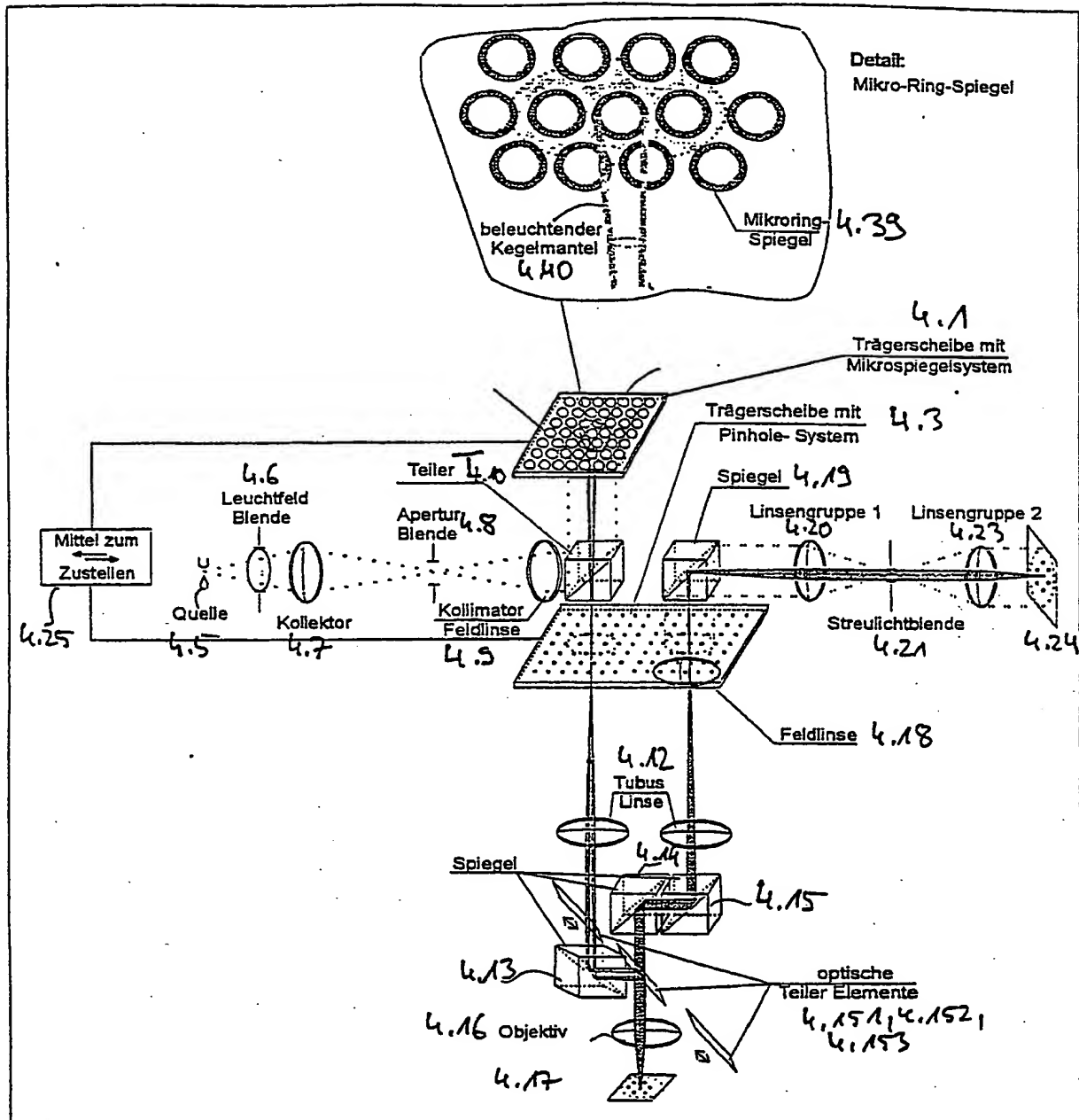
Figur 4b: konfokale, modifizierte Tandem- Anordnung mit $\Delta x \Delta y$ scannender Doppelscheibe sowie dichroitischer Einkopplung mehrerer Laser oder/und Laser mit Mehrfachlinien



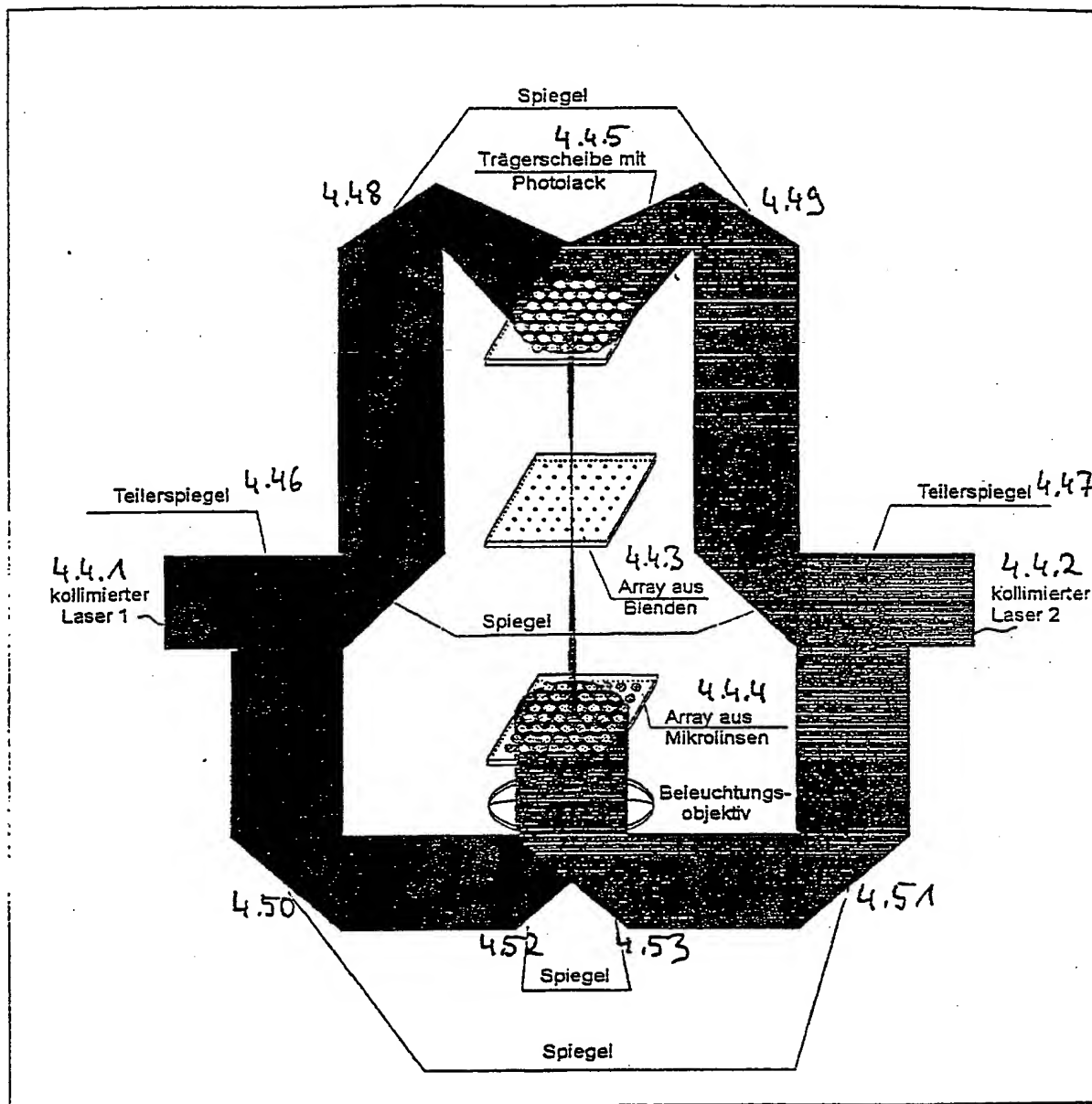
Figur 4c: konfokale stationäre Doppelscheiben- Tandem- Anordnung mit stellbaren Pinholedurchmessern und synchron laufenden Keilplatten sowie dichroitischer Einkopplung mehrerer Laser



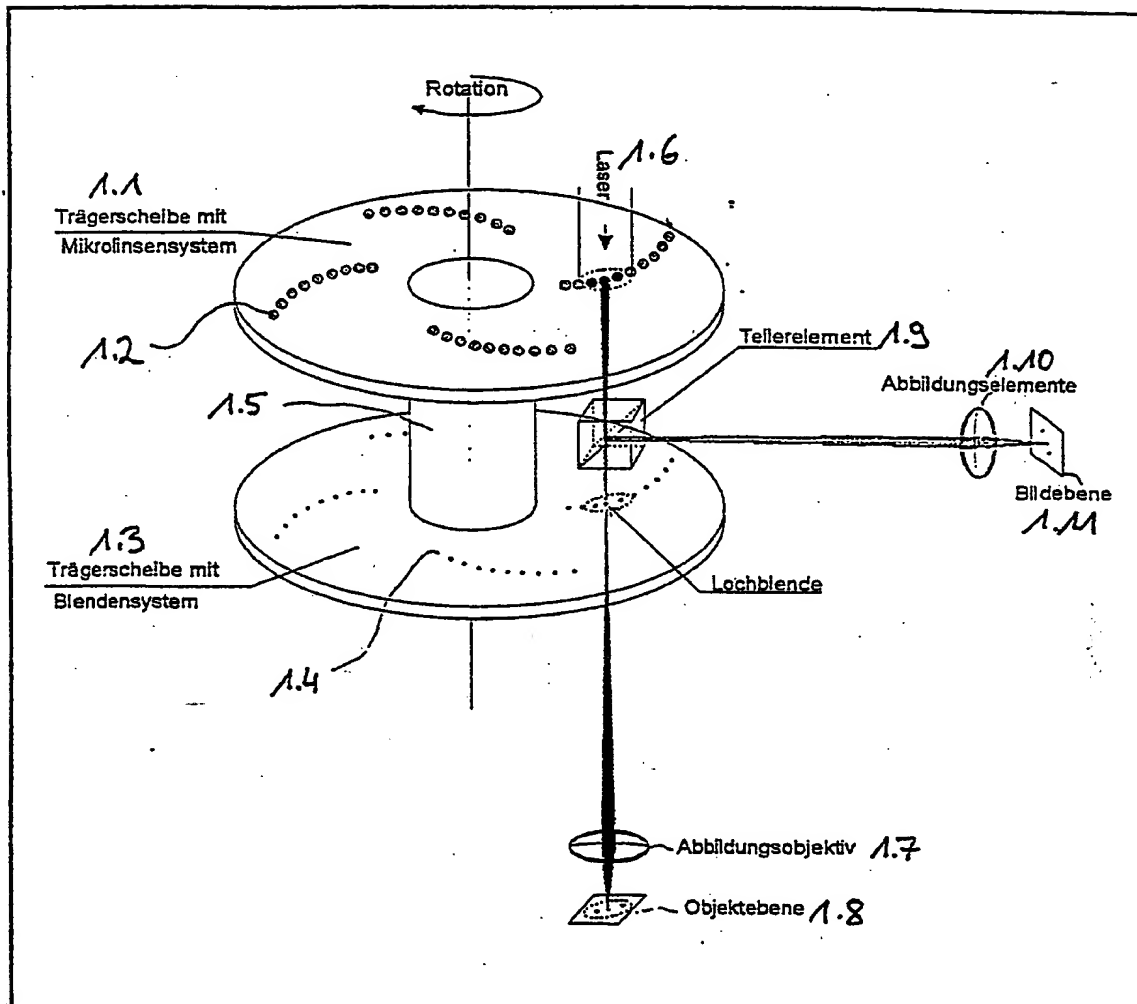
Figur 4d: konfokale stationäre Doppelscheiben- Tandem- Anordnung mit stellbaren Pinholedurchmessern und synchron laufenden Ablenkplatten sowie diffraktiver Einkopplung mehrerer Laser



Figur 4e:
 Parallele konfokale, modifizierte Tandem-Anordnung mit $\Delta x \Delta y$ scannender Doppelscheibe und strukturierten Mikrosiegeln für partielle Dunkelfeldbeleuchtung mit Weißlichtquellen



Figur 4f Anordnung für die Belichtung eines Hologrammes mit mehreren Laserquellen als einzelne Trägerscheibe und darauf entstehenden mikroholographischen Abbildungselementen



Figur1: Anordnung mit Nipkow- Doppelscheibe für effektive konfokale Beleuchtung und Beobachtung

- Leerseite -